L'odeur de la peur : Neurobiologie du conditionnement de peur à l'odeur chez le rat adulte et conséquences à long-terme des expériences néonatales

Yannick Sevelinge

▶ **To cite this version:**

Yannick Sevelinge. L'odeur de la peur : Neurobiologie du conditionnement de peur à l'odeur chez le rat adulte et conséquences à long-terme des expériences néonatales. Neurosciences [q-bio.NC]. Université Claude Bernard - Lyon I, 2006. Français. NNT : . tel-00944142

HAL Id: tel-00944142

https://theses.hal.science/tel-00944142

Submitted on 10 Feb 2014

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

N° d'ordre 205-2006 Année 2006

THESE

présentée

devant l'université CLAUDE BERNARD - LYON 1

pour l'obtention

du DIPLOME DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 avril 2002)

présentée et soutenue publiquement le 10 novembre 2006

par

Yannick SEVELINGES

L'ODEUR DE LA PEUR

NEUROBIOLOGIE DU CONDITIONNEMENT DE PEUR A L'ODEUR CHEZ LE RAT ADULTE ET INFLUENCES DES EXPERIENCES NEONATALES

Directrice de thèse: **Dr Anne-Marie MOULY**

en co-direction avec le Dr Regina SULLIVAN

JURY:
Pr Rémi GERVAIS, Président
Dr Georges DISCALA, rapporteur
Dr Frédéric LEVY, rapporteur
Dr Guillaume FERREIRA, examinateur
Dr Regina SULLIVAN, co-directrice de thèse
Dr Anne-Marie MOULY, directrice de thèse

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON I

Président de l'Université …….	**M. le Professeur L. COLLET**
Vice-Président du Conseil Scientifique	M. le Professeur J.F. MORNEX
Vice-Président du Conseil d'Administration……..	M. le Professeur R. GARRONE
Vice-Présidente du Conseil des Etudes et de la vie Universitaire…….	M. le Professeur G. ANNAT
Secrétaire Général……	M. J.P. BONHOTAL

SECTEUR SANTE

Composantes

UFR de Médecine Lyon R.T.H. Laënnec ...	Directeur: M. le Professeur D. VITAL-DURAND
UFR de Médecine Lyon Grange-Blanche...	Directeur: M. le Professeur X. MARTIN
UFR de Médecine Lyon-Nord ……	Directeur: M. le Professeur F. MAUGUIERE
UFR de Médecine Lyon-Sud ……..	Directeur: M. le Professeur F.N. GILLY
UFR d'Odontologie ……	Directeur: M. O. ROBIN
Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques …….	Directeur: M. le Professeur F. LOCHER
Institut Techniques de Réadaptation …….	Directeur: M. le Professeur L. COLLET
Département de Formation et Centre de Recherche en Biologie Humaine …	Directeur: M. le Professeur P. FARGE

SECTEUR SCIENCES

Composantes

UFR de Physique ……	Directeur: M. le Professeur A. HOAREAU
UFR de Biologie …….	Directeur: M. le Professeur H. PINON
UFR de Mécanique ……	Directeur: M. le Professeur H. BEN HADID
UFR de Génie Electrique et des Procédés...	Directeur: M. le Professeur A. BRIGUET
UFR Sciences de la Terre ……...	Directeur: M. le Professeur P. HANTZPERGUE
UFR de Mathématiques ……..	Directeur: M. le Professeur M. CHAMARIE
UFR d'Informatique ……...	Directeur: M. le Professeur M. EGEA
UFR de Chimie Biochimie …….	Directeur: M. le Professeur J.P. SCHARFF
UFR STAPS ……...	Directeur: M. le Professeur R. MASSARELLI
Observatoire de Lyon …….	Directeur: M. le Professeur R. BACON
Institut des Sciences et des Techniques de l'Ingénieur de Lyon ……	Directeur: M. le Professeur J. LIETO
IUT A ……..	Directeur: M. le Professeur M. C. COULET
IUT B ……..	Directeur: M. le Professeur R. LAMARTINE
Institut de Science Financière et d'Assurances ……	Directeur: M. le Professeur J.C. AUGROS

"Ca sent la trouille, Rémi!"

Benoît Poelvoorde
C'est arrivé près de chez vous (1992)

TABLE DES MATIERES

Avant-propos 7

Les émotions, du souvenir… 7

… à la survie 8

Glossaire des abréviations 10

Présentation des travaux 11

Plan 12

Chapitre 1 La mémoire, un processus distribué 14

1.1. Bref historique des connaissances: de la spéculation à l'expérimentation 15

1.1.1. Avant le 19ème siècle, au temps des philosophes et des spéculations 15

1.1.2. Le 19ème et début du 20ème siècle, le temps des pionniers… 18

1.1.3. Le patient H.M: vers une base neurobiologique de la mémoire 20

1.2. Qu'est la mémoire aujourd'hui ? 23

1.2.1. Les sous-catégories de mémoire à long terme: la dichotomie de Cohen et Squire 23

1.2.2. Les bases cérébrales de la mémoire: notion de réseau 26

1.2.3. Comment nos souvenirs sont-ils stockés ? La notion de plasticité. 31

1.2.4. Petit bilan de la mémoire 39

1.3. Modèles animaux et problèmes éthiques 40

1.3.1. Intérêts des modèles animaux de la mémoire: vers une compréhension de l'être humain ? 40

1.3.2. Aspects législatifs de l'éthique animale en laboratoire 41

1.3.3. Du respect de l'animal de laboratoire 43

Chapitre 2 Les émotions partenaires de la mémoire 45

2.1. Les émotions ? Une définition… difficilement définissable 46

2.1.1. Les émotions en psychologie 47

2.1.2. Les émotions en sciences expérimentales 49

2.2. Les différentes étapes des connaissances sur les émotions 51

2.2.1. Descartes, émotions, raison et passions de l'âme 51

2.2.2. Charles Darwin: de l'origine des émotions 53

2.2.3. Les théories périphéraliste de James-Lange et centraliste de Cannon-Bard 54

2.2.4. Le lobe limbique et le circuit de Papez 57

2.2.5. Mac Lean, le système limbique et le cerveau émotionnel 58

2.2.6. Downer, l'amygdale et le syndrome de Klüver et Bucy 60

2.2.7. Les émotions en disgrâce 61

2.2.8. Emotions et raison: la théorie des marqueurs somatiques de Damasio 62

2.2.9. Joseph LeDoux, l'amygdale et la peur 65

2.3. Relations entre émotions et mémoire: la peur comme modèle d'étude 66

2.3.1. Emotions et mémoire, quelques généralités 66

2.3.2. L'émotion de peur et les systèmes neuromodulateurs 67

Chapitre 3 Le conditionnement de peur, un modèle d'apprentissages émotionnels *70*

3.1. Pavlov, ses chiens et son conditionnement **71**
3.1.1. Expérience originelle 71
3.1.2. Principes de l'expérience 72

3.2. Le conditionnement pavlovien de peur **73**
3.2.1. Principes 73
3.2.2. Séance de conditionnement 74
3.2.3. Tests de rappel: mesures de l'apprentissage 75

3.3. Le conditionnement de peur au stimulus conditionnel: importance de l'amygdale **77**
3.3.1. L'amygdale, quelques généralités 77
3.3.2. Anatomie de l'amygdale 78
3.3.3. L'amygdale, une structure centrale… 83
3.3.4. … impliquée dans un réseau 99

3.4. Le conditionnement de peur au contexte: importance de l'hippocampe **103**
3.4.1. L'hippocampe, une structure majeure 103
3.4.2. Rôle de l'amygdale 106
3.4.3. Autres structures 108

Chapitre 4 L'olfaction dans le conditionnement de peur *110*

4.1. Pourquoi la modalité olfactive ? **111**
4.1.1. Importance de l'olfaction chez le rat 111
4.1.2. Particularités des projections du système olfactif: anatomie du système olfactif 112
4.1.3. Le pouvoir évocateur des odeurs 116

4.2. Le conditionnement de peur à l'odeur **118**
4.2.1. Données comportementales 118
4.2.2. Neurobiologie du conditionnement de peur à l'odeur 119
4.2.3. Conclusion sur l'apprentissage de peur conditionnée à l'odeur 122

4.3. Les questions qui restent en suspens **123**

4.4. Objectifs de cette étude: enregistrements électrophysiologiques sur l'animal vigile **125**

4.5. Bilan des résultats **136**
4.5.1. Première expérience: Comportement 136
4.5.2. Deuxième expérience: Electrophysiologie 137
4.5.3. Conclusions 138

Une petite transition… *139*

Chapitre 5 Effets des expériences précoces sur le comportement adulte *140*

5.1. Les périodes sensible et post-sensible chez le rat **141**
5.1.1. La période sensible 141
5.1.2. La période post-sensible 145

5.2. Apprentissages associatifs au cours de la période sensible **146**
5.2.1. Le conditionnement pavlovien au cours de la période sensible: quelques caractéristiques 146
5.2.2. Les apprentissages olfactifs précoces: principaux résultats 148
5.2.3. Conclusion: comment définir les apprentissages associatifs précoces? 150

5.3. Le cas particulier du conditionnement odeur-chocs néonatal **153**
5.3.1. Neurobiologie de l'apprentissage de préférence paradoxale 153
5.3.2. Déclenchement de la fin des apprentissages paradoxaux 154

5.4. Conséquences à long-terme des expériences précoces 156
5.4.1. Influences des expériences de stress prénatal 156
5.4.2. Influences des expériences néonatales 157
5.4.3. Influences des apprentissages précoces 160

5.5. Objectifs de l'étude: effets de l'association néonatale odeur-chocs sur le conditionnement de peur à l'odeur à l'âge adulte 161

5.6. Résultats supplémentaires: étude du cortex piriforme 187
5.6.1. Hypothèse de travail 187
5.6.2. Résultats 187
5.6.3. Discussion 188

5.7. Bilan des résultats de la deuxième étude 190

Chapitre 6 Discussion générale 192

6.1. Rappel des résultats obtenus 193

6.2. Peur et odeur: rôle des structures limbiques et corticales 194
6.2.1. Rappel de la théorie de Joseph LeDoux 194
6.2.2. Rôle de l'ACo, une spécificité de l'olfaction? 195
6.2.3. Rôle du cortex piriforme 198
6.2.4. Bilan de l'apprentissage de peur conditionnée à l'odeur chez l'adulte 199

6.3. Influences des expériences précoces sur le conditionnement de peur à l'âge adulte 200
6.3.1. Rappel des résultats 200
6.3.2. Le réseau impliqué dans l'apprentissage résiduel 201

6.4. Quelques perspectives 207

Bibliographie 210

Annexes 247

Liste des figures et portraits 253

Posters et Présentations orales 258

Avant-propos

Les émotions, du souvenir…

Votre premier baiser ! Souvenez-vous. Remontez dans le temps. Traversez le brouillard épais de vos souvenirs. Faîtes un effort, vous y êtes presque. Ca y est ! Vous y revoilà. Cette toute première fois où vos lèvres ont frôlé celles de l'autre. Cette toute première fois où vous avez penché votre tête. Cette toute première fois où vous avez approché votre visage et maladroitement osé l'embrasser. C'était il y a fort longtemps. Un vague souvenir perdu dans les méandres de votre mémoire. Comme tant d'autres. Et pourtant. Vous en souvenir ne ravive-t-il pas quelque frisson de plaisir ? N'esquissez-vous pas un sourire en imaginant la scène, le bonheur qui a du être le votre, après ? Ne ressentez-vous pas quelque satisfaction en vous revoyant heureux et fier de l'avoir fait ? Par la suite, plus rien ne serait comme avant, vous le saviez. Celui-ci a eu une saveur particulière. C'était le premier. C'était il y a bien longtemps. Une éternité. Une autre vie. Mais une *trace* de ce moment si spécial de votre vie a perduré, quelque part en vous. L'émotion si grande qui a accompagné ce moment en a fait un instant unique, un moment exceptionnel de votre vie. Et vous vous rappelez de celui-là, de ce premier baiser. Le deuxième ? Peu importe ! Tombé dans l'oubli ! Recouvert d'une couche de poussière couleur du temps. L'émotion était moins grande, vous étiez en terrain connu, le pas avait déjà été franchi. Mais ce premier ! Jamais vous ne l'oublierez.

Ainsi sont les émotions. Elles sont enfouies en nous. Font partie de nous. Parfois délicieuses, parfois néfastes, jamais neutres, elles jouent un rôle essentiel dans notre mémoire autobiographique. Cet exemple banal du premier baiser que chacun d'entre nous a vécu nous rappelle que mémoire et émotions sont intimement liées. Les événements ayant eu lieu dans un contexte à forte valence émotionnelle, bonne ou mauvaise, seront facilement mémorisés et stockés, et seront plus résistants à l'oubli. Prêts à être rejoués des années après. Volontairement ou non.

Et il suffit d'une modalité sensorielle réactivée pour rappeler automatiquement les autres modalités qui y étaient associées au moment de l'encodage. Un bruit de pneu qui crisse dans la rue et vous revoilà instantanément quelques mois auparavant au volant de votre

véhicule, vos pneus crissent car vous freinez de toutes vos forces pour éviter la voiture qui vient d'en face. Vous n'y êtes pas arrivé. Et à tout jamais, le bruit d'un pneu qui crisse vous glace sur place. Il semblerait que, plus que tout autre stimulus sensoriel, les odeurs, soient intimement liées aux émotions. Ainsi, qui parmi nous n'a expérimenté leur formidable pouvoir évocateur, si bien décrit par Marcel Proust dans son livre *Du côté de chez Swann* (1913/1987) et le passage célèbre de *La madeleine*: "*Mais, quand d'un passé ancien rien ne subsiste, après la mort des êtres, après la destruction des choses, seules, plus frêles mais plus vivaces, plus immatérielles, plus persistantes, plus fidèles, l'odeur et la saveur restent encore longtemps, comme des âmes, à se rappeler, à attendre, à espérer, sur la ruine de tout le reste, à porter sans fléchir, sur leur gouttelette presque impalpable, l'édifice immense du souvenir*". Ou encore le bonbon que vous allez mastiquer machinalement et qui, une fois en bouche, vous rappellera instantanément les nombreuses fois où votre grand-mère vous achetait les mêmes sur le marché. Vous vous y revoyez, vous êtes capable de parler aux gens, sentir le monde. Ce souvenir a une très forte connotation de plaisir et par la force de ce souvenir, évoqué par le goût et l'odeur de ce bonbon qui est anodin pour votre voisin, vous revivez cette scène des années après. Et les exemples sont nombreux. Infinis !

… à la survie

Cependant, en plus de ce pouvoir de mémorisation, les émotions peuvent avoir un rôle vital dans la survie d'un organisme. Le monde dans lequel nous vivons est dangereux. A tout instant peut surgir un danger, que ce soit une voiture qui vous coupe la route, une vipère qui s'approche de votre enfant lors d'un pique-nique familial ou un gros costaud à la mine patibulaire qui vous dévisage. Pour gérer ces situations, notre cerveau est parfaitement adapté, et l'émotion commune engendrée, la peur, va avoir pour conséquences que toutes les ressources nécessaires pour y faire face vont être mobilisées: ainsi, en une fraction de seconde, vous donnez un coup de volant salvateur, vous faîtes déguerpir promptement le reptile ou vous tenez prêt à fuir pour éviter la bagarre. Ainsi, un stimulus dangereux pour votre intégrité va entraîner *instinctivement* et immédiatement toute une série de réponses comportementales mais aussi végétatives (hausse du rythme cardiaque, de la fréquence respiratoire, crispation des muscles…), pour assurer votre survie. Dans d'autres cas, il arrive que des stimuli qui n'étaient initialement pas dangereux à vos yeux le soient devenus. Par exemple, vous adoriez les chiens jusqu'à ce que l'un d'eux vous morde. Depuis, vous ne

pouvez plus vous empêcher d'être méfiant et de manifester une certaine peur quand vous voyez un de ses congénères et vous savez que vous ne pourrez plus jamais leur faire confiance comme par le passé. Dans ce cas très simple, vous avez appris à vous méfier des chiens et votre réaction d'évitement par la suite vous assure de ne plus vous refaire mordre: la re-présentation d'un indice appris comme potentiellement dangereux va faire que vous allez mettre en place toute une série de réponses pour l'éviter. Bien que très déplaisantes pour vous, toutes ces réponses ont une valeur adaptative certaine pour votre survie.

Cette série d'exemples montre le rôle essentiel que jouent les émotions au quotidien. Que ce soit pour se souvenir ou survivre. Le but de cette thèse est de caractériser plus précisément l'une d'entre elles, la peur.

Glossaire des abréviations

Afin de faciliter la compréhension des principales abréviations utilisées dans le texte, voici un petit glossaire auquel se référer si la signification d'un terme vous échappe. Mis à part le BNST, ces abréviations ne seront pas utilisées lors de la discussion générale.

2

2-DG 2-DéoxyGlucose

A

AB ..... Noyau Basal Accessoire de l'amygdale
ACo .....Noyau Cortical de l'Amygdale
ACTH..... Hormone Adrénocorticotrope ou
.....Adrénocorticotropine
AMPA ..... Acide α-Amino-3-hydroxy-5-Méthyl-
.....4-isoxazole-Propionique
Axe HPC .....Axe Hypoyhalamus-tige Pituitaire de
.....l'hypophyse-glandes Corticosurrénales

B

BDNF .....Facteur Neurotrophique du cerveau
BL .....Noyau Basal de l'Amygdale
BLA.....Complexe Basolatéral de l'Amygdale
BNST .....Noyau du Lit de la Strie Terminale
BO ..... Bulbe Olfactif

C

Ce .....Noyau Central de l'Amygdale
CORT.....Corticostérone
CPa, CPp..... Cortex Piriforme antérieur
..... et postérieur
CPF ..... Cortex PréFrontal
CPO..... Conditionnement de Peur à l'Odeur

G

GABA ..... Acide γ-Amino-Butyrique

L

LA.....Noyau Latéral de l'Amygdale
LC ..... Locus cœruleus

M

Me.....Noyau Médian de l'Amygdale

N

NMDA .....N-méthyl-D-Aspartate

P

PAC .....Cortex PériAmygdalien
PCO ..... Peur Conditionnée à l'Odeur
PLT ..... Potentialisation à Long-Terme
PN .....Post-Natal

R

RED .....Réponse ElectroDermale

S

SC .....Stimulus Conditionnel
SI ..... Stimulus Inconditionnel

Présentation des travaux

La thématique générale de ces travaux fut d'étudier les bases neuronales sous-tendant les apprentissages émotionnels à l'aide d'un modèle animal. Pour cela, nous utilisâmes le paradigme du conditionnement pavlovien de peur à une odeur chez le rat.

L'ensemble des travaux a été effectué pour répondre aux deux grandes questions suivantes:

- Tout d'abord, nous avons cherché à identifier certaines structures du réseau neuronal impliqué dans l'acquisition de peur à l'odeur. Cela nous a tout d'abord amenés à mettre au point le protocole d'apprentissage de peur à l'odeur qui est peu utilisé dans la littérature. Puis, par une approche d'enregistrements électrophysiologiques multisites sur le rat vigile, nous avons testé si cet apprentissage s'accompagne de phénomènes de plasticité synaptique, en différentes structures cérébrales, à la fois corticales (cortex piriforme) et limbiques (amygdale). Ces travaux ont donné lieu à une publication en novembre 2004, dans la revue scientifique internationale *Learning and Memory*.
- Nous avons ensuite cherché à savoir quelles étaient les conséquences d'un conditionnement de peur à l'odeur subi par le raton (avant 10 jours) sur le même apprentissage à l'âge adulte. Ces travaux ont été faits à l'Université d'Oklahoma, à Norman aux Etats-Unis, dans le laboratoire du Docteur Regina Sullivan, au cours d'une collaboration de six mois. Cet échange a été financé par la région Rhône-Alpes, dans le cadre du projet EURODOC. Les travaux du Dr Sullivan et ses collaborateurs montrent qu'à un âge très précoce, le conditionnement de peur à l'odeur entraîne paradoxalement une préférence pour cette odeur. Nous avons recherché si cet apprentissage néonatal particulier perturbait les performances comportementales de l'animal adulte lors du conditionnement de peur à l'odeur. En parallèle, nous avons recherché si cette expérience néonatale induisait des modifications neurobiologiques à l'âge adulte, c'est-à-dire sur le réseau de structures cérébrales normalement impliquées. Pour cela, nous avons utilisé une approche couramment utilisée dans le laboratoire du Dr Sullivan, la cartographie fonctionnelle du cerveau à l'aide de 2-déoxyglucose (2-DG) marqué au ^{14}C. Ces travaux ont donné lieu à un article en soumission actuellement.

Plan

Avant de rentrer plus en avant dans mes travaux, laissez-moi vous présenter le plan que vous allez suivre au cours de cette lecture:

D'abord, nous verrons que la mémoire est un phénomène distribué dans le cerveau. Par ailleurs, de René Descartes à Brenda Milner, en passant par William James et Maine de Biran, nous pourrons nous rendre compte que la conception actuelle de la neurobiologie de la mémoire provient d'une longue histoire de réflexions philosophiques au cours de âges, puis d'expérimentations diverses, que ce soit sur l'humain sain ou lobotomisé (Ah! les années 50 et leurs apprentis sorciers de la chirurgie du cerveau !) ou sur l'animal. Sur ce dernier point, nous apprécierons ensemble l'intérêt des modèles animaux pour la compréhension des grandes fonctions humaines en général et sur les fonctions mnésiques en particulier et nous finirons par une digression sur les problèmes éthiques posés par l'expérimentation animale.

Qui dit *apprentissages émotionnels* dit *apprentissages*, notion évoquée dans le premier chapitre, et *émotions*. Le deuxième chapitre sera donc dédié à définir les émotions. Vaste tâche ! En effet, nous pourrons nous rendre compte qu'il est très dur de trouver une définition satisfaisante à ce terme. Ensuite, de la théorie des émotions communes entre l'homme et l'animal de Charles Darwin aux théories de Antonio Damasio, du combat permanent entre *raison* et *passions de l'âme* de Descartes aux joutes homériques de Walter Cannon face à William James, nous verrons là encore que les conceptions ont évolué au cours des âges et qu'aujourd'hui, il n'existe toujours pas de définition consensuelle de ce qu'est l'émotion ou plutôt de ce que sont les émotions. Nous essayerons enfin de comprendre pourquoi il existe un lien si fort entre mémoire et émotions, pourquoi certains évènements sont retenus toute notre vie durant alors que d'autres sont oubliés derechef.

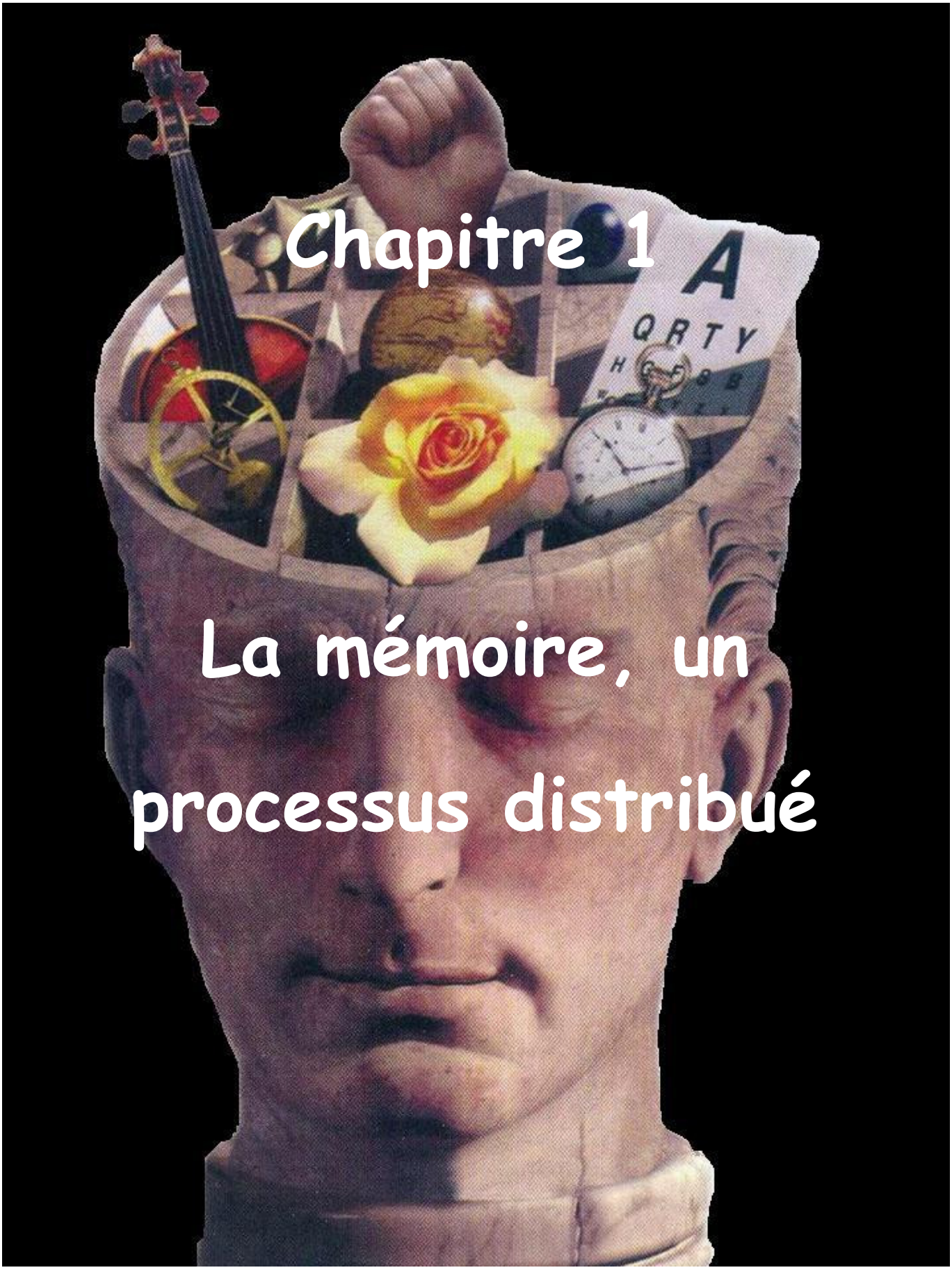
Dans le troisième chapitre, nous présenterons ce qui constitue le modèle privilégié de l'apprentissage de peur conditionnée et verrons qu'il est très simple d'obtenir d'un animal (et donc d'un homme) l'attribution d'une valence positive ou négative à un stimulus neutre. Pavlov fut le premier à le montrer, je présenterai ses expériences princeps. Pour le conditionnement de peur, la vaste majorité des recherches ayant été effectuées jusqu'à présent l'ont été à l'aide de son et dans une moindre mesure à l'aide de stimuli visuels. C'est

pourquoi, nous étudierons d'abord plus en détails l'apprentissage de peur conditionnée à une lumière (un peu) et à un son (beaucoup !), et l'importance d'une structure clé, l'amygdale.

Dans le quatrième chapitre, nous rentrerons dans le premier axe de recherche de cette thèse, le conditionnement de peur à l'odeur. Nous verrons qu'il existe des liens privilégiés entre les structures traitant les émotions (celles du système limbique notamment) et le système olfactif et que le conditionnement olfactif sollicite certaines structures communes aux conditionnements non olfactifs mais qu'il en utilise aussi d'autres plus spécifiques. Pour certaines d'entre elles, leur implication n'avait jamais été montrée auparavant dans cet apprentissage.

Le cinquième chapitre sera dévolu au deuxième axe de recherche de cette thèse. Nous étudierons chez l'adulte les conséquences comportementales et neurofonctionnelles à l'âge adulte d'un conditionnement néonatal de peur à l'odeur. La deuxième expérience a été faite en collaboration avec le Docteur Sullivan de l'Université d'Oklahoma. Nous verrons qu'un conditionnement de peur à l'odeur en bas âge est capable d'influencer le traitement émotionnel du même stimulus à l'âge adulte et que le réseau de structures sous-tendant l'apprentissage aversif s'en trouve modifié.

Enfin, lors du sixième chapitre, une discussion générale reprenant l'ensemble des résultats obtenus au cours de cette thèse permettra de synthétiser ce que nous avons appris du conditionnement de peur à l'odeur chez l'adulte et des conséquences que peut avoir cette même expérience vécue en bas âge. Ces résultats pourront être vus dans une perspective plus vaste qui est de comprendre les mécanismes neurobiologiques qui sous-tendent les apprentissages aversifs et ceux qui expliquent les conséquences à long-terme d'apprentissages précoces.



Chapitre 1

La mémoire, un processus distribué

Aujourd'hui, il existe un consensus dans le domaine de la neurobiologie de la mémoire pour dire qu'il n'existe pas une mais des mémoires, pas plus qu'il n'existe de *centre de la mémoire* localisé dans le cerveau. Au contraire, la mémoire ferait intervenir un vaste réseau de structures cérébrales fortement interconnectées entre elles. La quantité incroyable de méthodes et d'approches disponibles à l'expérimentateur de nos jours (neurosciences, psychologie, psychopathologie, psychophysique, modélisation informatique, génétique, microbiologie, pharmacologie, imagerie fonctionnelle et cellulaire…), aussi bien chez l'homme que chez l'animal, permettent de répondre de plus en plus finement aux questions suivantes:

Qu'est-ce que la mémoire ?

Quels sont les mécanismes qui sous-tendent le stockage d'une information, sa rétention à long terme et son rappel ?

1.1. Bref historique des connaissances: de la spéculation à l'expérimentation

Ce rapide survol de l'histoire de la recherche sur la mémoire ne se veut nullement exhaustif mais permettra, je l'espère, de donner un aperçu de l'évolution des concepts et des méthodes d'étude de la mémoire.

1.1.1. Avant le 19ème siècle, au temps des philosophes et des spéculations

Avant l'avènement des sciences expérimentales, de nombreuses fonctions qui n'avaient pas d'explications rationnelles, dont la mémoire, étaient vues comme d'*essences divines*, impalpables. Et donc inapprochables autrement que par la réflexion et la sagesse.

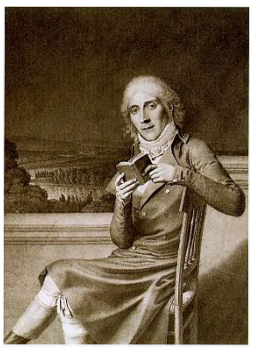
Portrait 1
Platon (428-348 avant notre ère)

Dès l'antiquité grecque, la nature de la mémoire fait débat puisque de nombreux ouvrages relatent nombre de joutes verbales entre philosophes. Parmi eux, Platon (428-348 avant notre ère, voir Portrait 1), qui est un fervent défenseur d'une dissociation formelle entre âme et corps, entre le *monde visible* qui nous entoure et le *monde réel*, le monde des idées, abstrait, celui que nous construisons. Dans *Le Théétète*, la mémoire est comparable à un cachet de cire: notre âme a la possibilité de recevoir des impressions de l'extérieur via notre corps. La mémoire serait une disposition passive de l'âme qui lui permet de conserver des empreintes d'évènements vécus. Mais elle ne serait qu'une pure faculté de stockage, qu'un processus rétentionnel qui donnerait à l'âme la possibilité de puiser dans l'ensemble de ses empreintes vécues et de comparer chaque nouvelle sensation à l'empreinte qui lui ressemble, afin de se forger une opinion, c'est-à-dire la faculté de juger. Dans *Le Ménon*, Platon modifie cette vue strictement utilitaire de la mémoire puisqu'elle ne résout pas la question de savoir comment apprendre quelque chose de nouveau, c'est-à-dire quelque chose qu'on ne connaît pas encore. Il introduit alors la notion de *réminiscence*. Selon lui, notre âme possède déjà toute la connaissance des choses que nous cherchons mais ces connaissances sont recouvertes d'un voile d'oubli. Lorsque nous mourrons, l'âme rejoint le monde des idées, le monde de la connaissance absolue, d'où elle peut contempler tous les êtres et connaissances qui existent. Par la suite, cette connaissance se voile d'oubli lors de son incarnation dans un corps. Ainsi, la mémoire relèverait d'un état ancien, où, vivant avec les dieux, nous avions une vue directe et immédiate des idées. Ainsi, dans l'hypothèse de l'*anamnèse*, la mémoire est l'opération essentielle qui fournit à l'homme la connaissance de ce qui a été oublié, en lui amenant la *raison* des choses qu'il recherche. Dans cette description, la mémoire apparaît donc comme une fonction supérieure de l'homme qui lui donne accès au monde des idées. Cette vue de la mémoire comme phénomène impalpable reflète la philosophie dialectique de Platon, c'est-à-dire que pour connaître une chose et avancer vers la vérité, la discussion et la confrontation d'opinions contradictoires permettent de lever le voile de l'oubli et sont suffisantes pour en comprendre l'essence. Par là même, il discrédite toute approche expérimentale. Et la mémoire ne reste qu'un point de vue philosophique.

Portrait 2
René Descartes
(1596-1650)

Au 17è siècle, dans le *Discours de la méthode* (1637), René Descartes (1596-1650, voir Portrait 2), postule que la mémoire serait une fonction spécifiquement humaine. En effet, Descartes est un fervent défenseur du dualisme, c'est-à-dire de la dualité entre le corps (*rex extensa*), domaine des phénomènes physiques et mécaniques, indéfiniment divisible, et de l'esprit (*rex cogitens*), domaine purement spirituel et indivisible. Ces deux domaines sont indépendants, c'est-à-dire que l'un peut se dérouler sans l'autre. Selon lui, seul l'homme possède une âme, totalement distincte du corps, ce dernier ne se différenciant aucunement de celui des animaux. Mais il n'ignore pas qu'il y a des interactions entre corps et esprit et qu'il doit donc exister une structure cérébrale permettant le passage de l'un à l'autre: selon lui, la glande pinéale (épiphyse), seule structure cérébrale qui ne soit pas présente en double dans le cerveau, serait le *siège de l'âme*, qui est une "*substance dont toute l'essence ou la nature n'est que de penser*" (Le Traité des Passions, 1649). Et cette âme nous différencierait des animaux. Pour ces derniers qui en sont privés, tous leurs comportements ne sont que réflexes. Pour l'homme, au contraire, sa conduite peut s'adapter à des situations nouvelles car il est capable de raisonner et surtout de comparer cette situation aux connaissances qu'il a déjà. Ainsi, comme pour Platon, la mémoire fait partie des fonctions supérieures de l'homme qui lui permettent d'adapter ses comportements et d'accéder à la réflexion. Mais comme pour Platon, la mémoire n'est pas une fonction matérielle et ne quitte pas le domaine des idées.

Et jusqu'à l'avènement des sciences expérimentales, nombres de théories basées uniquement sur les pensées de leurs auteurs verront le jour. Nous pouvons noter, par exemple, le Français Marie François Pierre Gonthier de Biran (1766-1824, voir Portrait 3) dit Maine de Biran (1799/1953) qui tente une description systémique de la mémoire en trois entités distinctes: la mémoire des représentations, la mémoire des impressions et la mémoire motrice, mais sans qu'une quelconque démonstration expérimentale ne vienne appuyer ses dires. Ainsi, jusqu'au 19è siècle, les études sur la mémoire restent théoriques et ne quittent pas la sphère philosophique. Il faudra attendre la fin du 19è siècle pour voir les premières expérimentations de la mémoire et les premiers psychologues qui élaborent leurs théories à partir l'observation de patients humains.



Portrait 3
Maine de Biran
(1766-1824)

1.1.2. Le 19ème et début du 20ème siècle, le temps des pionniers…

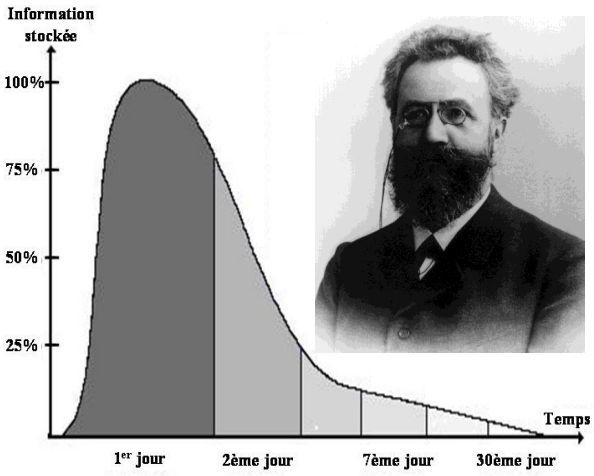


Figure 1.1 Courbe d'oubli de Ebbinghaus

Au temps des philosophes *sensu stricto* succéda celui de l'avènement des sciences expérimentales sous l'égide de Claude Bernard (1813-1878).

Le temps fut alors celui des psychologues/philosophes qui commencèrent à étudier la mémoire comme une fonction biologique mesurable et qui élaborèrent donc leurs théories à partir d'observations. Et le rythme de publications et d'apparition de théories s'accélère… Cependant, les études expérimentales resteront peu nombreuses jusqu'à la deuxième moitié du 20è siècle. Le premier à décrire expérimentalement la mémoire fut le psychologue allemand Hermann Ebbinghaus (1850-1909, voir Figure 1.1). En effet, il appliqua des méthodes expérimentales aux autres domaines que ceux de la sensation, et notamment à ceux de la mémoire et de l'apprentissage. En 1885, il publie la première étude expérimentale de la mémoire (Ebbinghaus, 1885) où il établit la première courbe de l'oubli (voir Figure 1.1). Dans cette expérience, il fait apprendre une liste de syllabes sans signification à ses sujets: il mesure la capacité de mémorisation par le nombre d'essais qu'il faut à chacun pour l'apprendre et teste leur rétention à différents intervalles. Il mentionne qu'après 1 heure, 50 à 80% de l'information est oubliée, 90% le lendemain et qu'après 1 mois, 97% de ce que les sujets savaient initialement a été oublié. Après cette expérience, certes rudimentaire mais totalement innovante, les observations et expériences scientifiques vont s'accélérer pour aboutir aux recherches modernes sur la neurobiologie de la mémoire. Quelques années plus tard, Williams James (1842-1910, voir Portrait 4) publie son Principles of Psychology (James, 1890) dans lequel il fait un essai sur la mémoire, la mémorisation et l'oubli. Il se demande déjà pourquoi certains évènements sont oubliés sitôt vécus et pourquoi d'autres sont

Portrait 4
Williams James
(1842-1910)

mémorisés toute la vie. Il propose que différents processus peuvent expliquer la mémorisation d'évènements et que la notion d'oubli est primordiale dans la mémoire car selon lui, "*si nous nous rappelions tout, nous serions en la plupart des occasions aussi malades que si nous ne nous rappelions rien*". En 1888, le philosophe Henri Bergson (1859-1941) proclame que la mémoire est essentielle à la vie car sans mémoire de ce que nous avons fait, nous ne pourrions pas avoir de conscience (Bergson, 1888/1970). Néanmoins, il mentionne également qu'il ne faut pas rester prisonnier du passé pour vivre le présent, d'où la nécessité de l'oubli qui sélectionne ce qui est vital à la vie et écarte ce qui est inutile ou pourrait être nuisible (il faut par exemple savoir surmonter une épreuve douloureuse et ne pas en garder un souvenir trop vif trop longtemps).

Portrait 5
Eduard Claparède
(1873-1940)

L'étude de sujets humains amnésiques intervient à la même époque. En 1911, le psychiatre Eduard Claparède (1873-1940, voir Portrait 5) décrit le cas d'une patiente amnésique, internée à l'asile de Bel Air depuis 1906 et qui souffre d'une forme sévère d'amnésie antérograde: elle se souvient de faits personnels anciens, connaît la capitale de nombreux pays, peut faire des calculs mentaux mais oublie toute conversation qu'elle a au bout de quelques minutes, ne sait pas où elle est, ne se rappelle pas de ses médecins qu'elle voit tous les jours ni de l'infirmière qui s'occupe d'elle en permanence (Claparède, 1995). Cependant, elle sait aller seule aux toilettes mais est incapable d'en indiquer le chemin, elle ne reconnaît pas son infirmière mais lui demande néanmoins si le repas est bientôt prêt. Et les exemples ne manquent pas ! Le Dr Claparède fit alors l'expérience suivante: il plaça un jour une punaise dans sa paume et lorsqu'il serra la main de sa patiente, celle-ci se piqua et ressentit une vive douleur. Quelques minutes plus tard, la douleur s'était estompée et la patiente n'avait plus aucun souvenir de cet épisode. Néanmoins, quand le psychiatre proposa à nouveau de lui serrer la main, elle refusa, sans savoir pourquoi. Quand il lui demanda pourquoi elle avait refusé, elle lui répondit: "*n'ai-je pas le droit de retirer ma main ?*". Le docteur insista et eut comme réponse: "*peut-être avez-vous caché une punaise dans votre main ?*". Le docteur lui demanda enfin pourquoi elle avait une idée pareille, elle lui dit que "*c'est une idée qui m'a traversé l'esprit, parfois, des punaises sont cachées dans les mains des gens*". Pour expliquer ces observations, Claparède propose ainsi la dichotomie suivante: il existe une perception des relations qui existe entre les choses, qu'il appelle fonctions périphériques et une perception des relations entre les choses et soi-même, qu'il appelle fonction égocentriques. Cette deuxième fonction serait intacte chez

cette patiente. Ainsi dès le début du 20ème siècle, une première notion qu'il existe au moins deux types de mémoire, une du soi et une des choses, est mentionnée. Par la suite, de nombreuses études (la liste n'est évidemment pas exhaustive) s'attacheront à décrire plusieurs types de mémoire. McDougall (1923) fait la distinction entre récollection explicite et implicite, Tolman (1948) stipule également qu'il existe plus d'un type de mémoire. La première moitié du 20ème siècle voit donc l'essor de l'étude sur la mémoire et des interrogations philosophiques issues de l'observation directe.

Néanmoins, la conception actuelle de la neurobiologie de la mémoire a réellement débuté en 1957, lorsque le neurochirurgien William Scoville et la psychologue Brenda Milner ont décrit le patient H.M.

1.1.3. Le patient H.M: vers une base neurobiologique de la mémoire

1.1.3.1. Le patient H.M., qui est-il ?

Portrait 6
William Scoville et Brenda Milner

Scoville et Milner (voir Portrait 6) (1957) décrivent pour la première fois le cas d'un jeune homme de vingt-neuf ans à l'époque, le patient H.M. Cet homme a un haut niveau d'étude puisqu'il est diplômé du lycée et a un quotient intellectuel élevé de 104 avant l'opération. Suite à un accident de vélo à l'âge de neuf ans, il commence, dès l'âge de dix ans, à souffrir de crises d'épilepsie fréquentes et modérées. A seize ans, ses crises augmentent en puissance et intensité, malgré la prise d'anticonvulsants. Voici la description qu'en font les auteurs: "*les crises de grand-mal apparaissent sans prévenir et sans signes de latéralisation. Ce sont des convulsions généralisées, avec morsure de la langue, incontinences urinaires et pertes de conscience suivies par une somnolence prolongée. Malgré les prises d'anticonvulsants puissants et variés, les crises de grand-mal ont augmenté en fréquence et sévérité au cours des années au point qu'il est incapable de travailler*". Bien que des études en électro-

encéphalographie aient été menées le 17 août 1953 sans définir clairement de zones épileptogènes, une intervention chirurgicale fut décidée et menée le 1er septembre 1953: une ablation bilatérale des lobes temporaux médians fut faite, du milieu à l'apex du lobe temporal, la corne temporale constituant la limite latérale de la section (voir Figure 1.2). Dans cette partie ôtée, une structure que l'on sait maintenant clé dans la mémoire, l'hippocampe. Après l'intervention, les auteurs mentionnent que le patient continuent de souffrir de crises mais qu'"*elles sont moins incapacitantes qu'avant*".

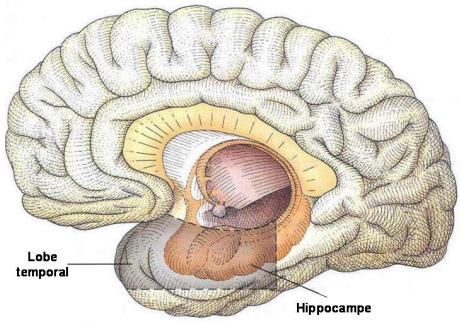


Figure 1.2
Lésion du patient H.M
(d'après Squire et Kandel, 2002)

L'examen psychologique fut mené le 26 avril 1955. Ce qui choqua les examinateurs fut que ce patient souffrait d'amnésie rétrograde puisqu'il ne se rappelait de rien à partir de mars 1953, soit dix-neuf mois avant l'opération. De plus, il souffrait d'amnésie antérograde puisqu'il oubliait les événements au fur et à mesure qu'ils se produisaient, et ne se souvenait pas, par exemple, d'avoir vu le médecin quelques minutes auparavant. Des tests psychologiques montrèrent que son quotient intellectuel était de 112, soit mieux qu'avant l'opération, qu'il ne présentait pas de troubles de perception, de pensées abstraites, de capacités de raisonnement ou de motivation. En résumé, le patient H.M. souffrait uniquement d'amnésies antérograde et rétrograde mais ne présentait pas de troubles de l'intelligence ou de personnalité. Et cette amnésie provenait visiblement de l'absence de lobe temporal ! Pour la première fois, un lien clair entre mémoire et structure cérébrale était mis en lumière.

Notons brièvement ici un point amusant de cet article: en 1957, le patient H.M n'est qu'un patient décrit avec neuf autres. Il n'a alors pas encore le statut de célébrité qui est le sien maintenant.

1.1.3.2. Ce que le patient H.M. a apporté à l'étude de la mémoire

Pour comprendre comment fonctionne la mémoire, quelles sont ses bases neurobiologiques ou ses différents types, les intuitions des psychologues et les discours philosophiques ne suffisent pas. Grâce au patient H.M., l'approche expérimentale moderne de

l'étude de la mémoire a réellement débuté. Depuis 1953, plus d'une centaine d'expériences ont été menées sur lui (pour revue, voir Corkin, 2002), en utilisant différents paradigmes expérimentaux qu'il serait trop long d'énumérer ici (voir Figure 1.3).

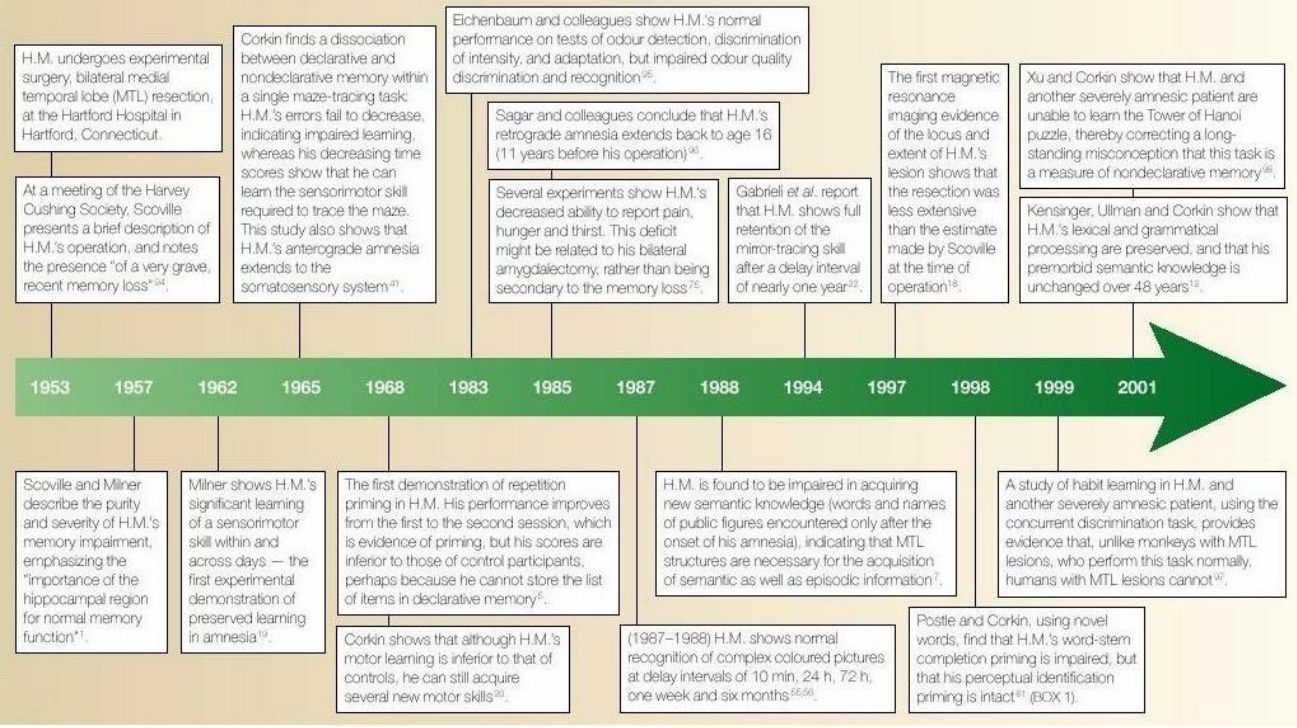


Figure 1.3 Chronologie des expériences sur le patient H.M (d'après Corkin, 2002)

Néanmoins, une étude mené par Milner (1962) reste indispensable pour comprendre la vision actuelle de la neurobiologie de la mémoire: dans cette étude, le patient H.M. a eu pour tâche de suivre avec un crayon le dessin d'une étoile à 5 branches sans voir directement sa main mais grâce à un miroir (voir Figure 1.4). Cette tâche est difficile au début car elle nécessite de corriger toutes ses habitudes de coordinations visuomotrices. Néanmoins, au cours des essais, ce patient a amélioré ses performances de façon similaire aux sujets témoins mais ne gardait aucun souvenir de ses essais précédents, affirmant ne jamais avoir fait ce test.

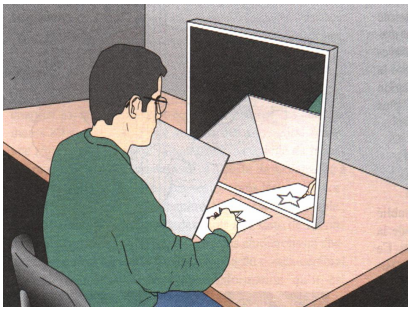


Figure 1.4
Test de l'étoile

De cette expérience originelle, une conclusion s'est dégagée: il existe une mémoire accessible à la conscience et qui est verbalisable et un deuxième type, une mémoire indépendante de la première, qui porte sur les habiletés motrices. Pour le patient H.M, seule la première était déficiente suite à l'opération alors que la deuxième était intacte. La notion moderne qu'il existe différents types de mémoire était née.

En conclusion, trois points importants sont à retenir du cas H.M.: premièrement, il semble exister un support neurobiologique à la mémoire, c'est-à-dire qu'au même titre que n'importe quelle fonction corporelle, elle est mesurable, quantifiable et peut s'étudier de manière expérimentale. Le lobe temporal joue un rôle primordial dans la mémorisation et le rappel d'informations nouvelles. Deuxièmement, l'importance d'une même structure varie au cours du temps puisque l'ablation du lobe temporal empêche seulement l'acquisition de faits nouveaux mais pas le rappel de souvenirs très anciens. Enfin, la mémoire n'est pas une fonction une mais est divisible en au moins deux sous-catégories, une mémoire verbalisable et une mémoire procédurale.

Après ce survol rapide de l'historique des idées, laissons là nos amis d'un paragraphe et plongeons nous plus en profondeur dans les connaissances plus actuelles de la mémoire.

1.2. Qu'est la mémoire aujourd'hui ?

Dans ce paragraphe, nous allons voir ensemble ce qu'est la mémoire aujourd'hui. Ou plutôt les mémoires. Car les spécialistes sont unanimement convaincus qu'il en existe plusieurs sortes. De fait, quels sont les réseaux de structures les sous-tendant, comment ces réseaux évoluent-ils et sous quelle forme l'information est-elle mise en mémoire ? L'ensemble de ces questions a été abordé à l'aide d'études sur le sujet humain (sujets sains ou pathologiques) mais également par l'utilisation de modèles animaux. Pour chaque point argumenté, un parallèle sera fait entre ce que l'on sait chez l'homme et dans quelle mesure ces découvertes ont été corroborées chez l'animal.

1.2.1. Les sous-catégories de mémoire à long terme: la dichotomie de Cohen et Squire

En 40 ans d'expérimentation, la conception de deux types de mémoire a évolué vers un système de mémoire multiple, c'est-à-dire à plus de deux composantes. Ainsi, d'un point de vue conceptuel, Tulving (1985) propose qu'il existe plusieurs types de mémoire mettant en jeu

des réseaux cérébraux qui diffèrent, au minimum par 1) la catégorie d'informations qu'ils traitent, 2) la manière dont ils les traitent et enfin 3) le type de restitution qu'ils permettent.

Cette conception de la mémoire corrobore les travaux réalisés par Neal Cohen et Larry Squire en 1980. Ces auteurs ont fait passer à plusieurs patients souffrant d'amnésie antérograde ainsi qu'à des sujets contrôles le test suivant: les sujets avaient à lire dans un miroir des triades de mots peu fréquemment utilisés de huit à dix lettres (par exemple: capricieux, grandiose…). Chaque jour pendant trois jours consécutifs, ils devaient lire cinq blocs de dix triades (quatre cent cinquante mots). Treize semaines plus tard, un quatrième jour de test de lecture leur était proposé également. Pour chaque bloc, cinq triades étaient communes à tous les blocs, c'est-à-dire présentes à chaque fois, et les cinq autres étaient uniques. Les sujets avaient pour consigne d'appuyer sur un bouton quand ils avaient terminé leurs lectures. Les auteurs ont mesuré le temps mis pour lire les triades. Chez tous les sujets, une amélioration du temps de lecture a été mis en évidence, démontrant que les patients amnésiques sont capables d'acquérir une nouvelle tâche. Seulement, alors que le temps de lecture employé pour lire les triades répétées diminuait plus que pour les triades non-répétées chez les sujets sains, la courbe d'apprentissage n'était pas modifiée chez les patients amnésiques, démontrant ainsi leur incapacité à se servir de ce qu'ils avaient déjà effectué maintes fois pour améliorer leurs performances. Les auteurs ont donc émis l'hypothèse qu'il existe deux circuits cérébraux distincts pour deux types de mémoire, une mémoire déclarative que les auteurs nomme la mémoire du *savoir que* (*knowing that*) et une mémoire non-déclarative, la mémoire du *savoir comment* (*knowing how*).

Depuis cette dichotomie initiale de la mémoire, ces deux grands types ont été divisés en plusieurs sous-types (pour revue, voir Squire, 1992, 2004) (voir Figure 1.5 page suivante).

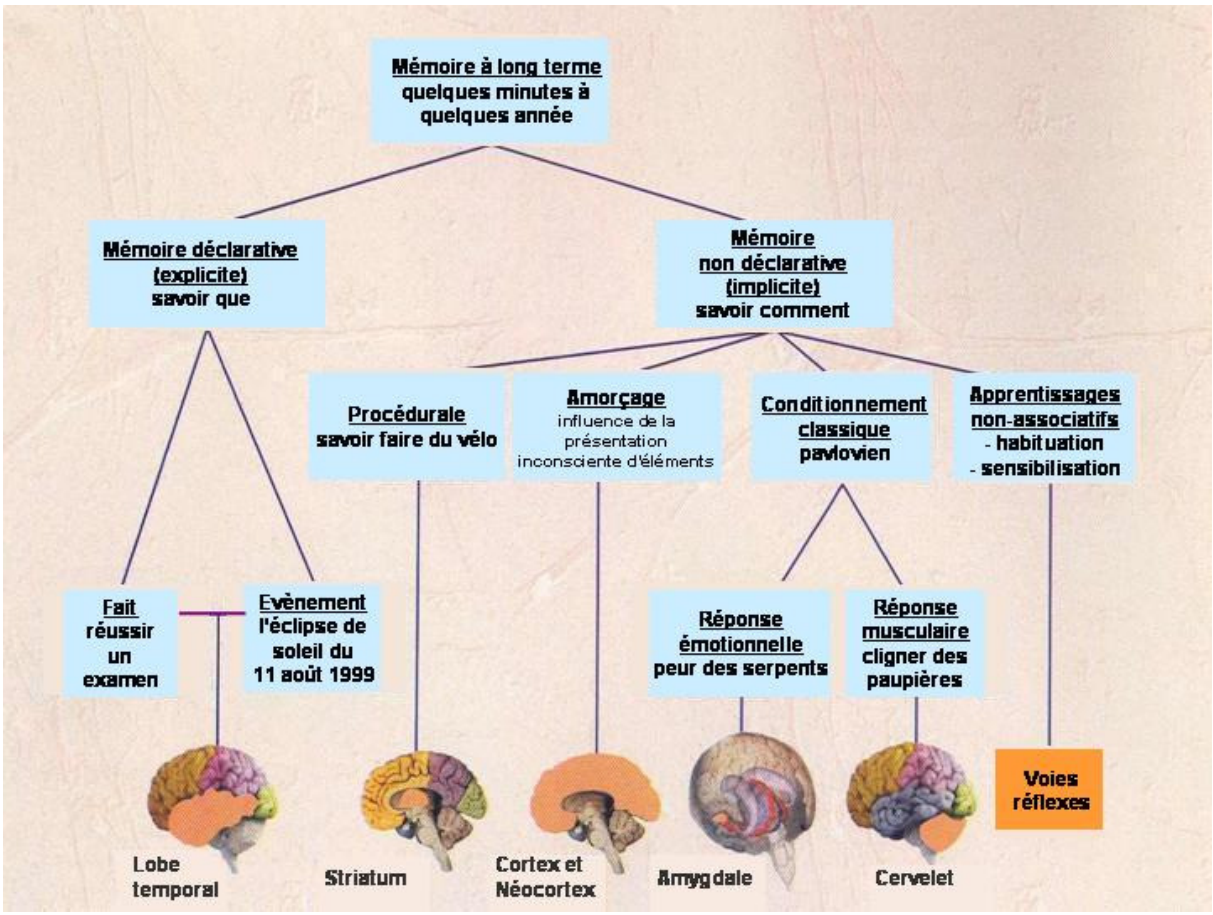


Figure 1.5 Les différents types de mémoire (d'après Squire, 2004)

Voyons plus en détails ce que sont les mémoires déclarative et non-déclarative.

Selon les propres termes de Squire (2004), la mémoire déclarative "*est le type de mémoire auquel se réfère le mot* mémoire *dans le langage courant. Elle se réfère à la capacité de récollection consciente des faits et des événements, est le type de mémoire qui est altérée dans les amnésies et dépend des structures du lobe temporal médian et du diencéphale*". La mémoire déclarative est donc celle qui a été touchée dans le cas du patient H.M. Cette mémoire serait divisée en deux mémoires distinctes, la mémoire épisodique et la mémoire sémantique (Squire, 2004). La mémoire épisodique est typiquement celle utilisée lorsque l'on demande à quelqu'un où il se trouvait tel jour à telle heure et ce qu'il faisait. Cette mémoire est celle qui sert aux accusés lors d'interrogatoires. La mémoire sémantique est quant à elle la mémoire de nos connaissances, c'est-à-dire notre culture générale et la connaissance que nous avons du monde. Celle qui me permet de savoir que Bourg-en-Bresse est le chef-lieu de l'Ain ou que le dernier panier de Michael Jordan inscrit avec les Bulls de Chicago après une interception sur le pauvre Karl Malone donna la victoire à son équipe et

son sixième titre NBA. Cette mémoire est celle utilisée dans certains jeux de culture générale façon *Question pour un champion*.

La mémoire non déclarative quant à elle porte sur les habiletés motrices et forme des souvenirs qui ne peuvent être évoqués consciemment. Ainsi, dans le test de l'étoile (Milner, 1962), le patient H.M voyait ses performances s'améliorer au cours des essais mais ne gardait pas de souvenirs de l'avoir déjà passé auparavant. Cette mémoire va nous permettre d'appuyer de façon automatique sur la pédale de freins lorsque l'on voit un feu rouge (conditionnement classique), de faire du vélo (mémoire procédurale), de faciliter ou perturber le traitement d'une information par la présentation préalable d'éléments subliminaux (amorçage) ou de ne plus faire attention à un élément de l'environnement au bout d'un certain temps en sa présence (habituation). Un exemple typique est lorsque l'on est gêné par une odeur trop intense et trop prenante et qui pourtant, au bout de quelques secondes, ne nous dérange plus ou beaucoup moins.

Voyons maintenant ce que nous savons des bases cérébrales de ces grandes sous-catégories de mémoires à long terme. Les connaissances accumulées dans le domaine l'ont été par l'apport des études chez l'homme bien entendu, mais également par des interactions permanentes avec les modèles animaux. Ainsi, telle découverte chez l'homme a été vérifiée chez l'animal, ce qui a amené d'autres hypothèses, testées en retour chez l'homme et ainsi de suite. Je ferai donc le parallèle en permanence entre les études chez l'homme et l'animal, en gardant en tête que l'un se nourrit de l'autre et vice versa.

1.2.2. Les bases cérébrales de la mémoire: notion de réseau

Comme le montre la Figure 1.5, il existe une grande correspondance entre des structures cérébrales et les différents systèmes de mémoire. En d'autres mots, selon le type de mémoire auquel on se réfère, différentes structures sous-tendent son bon fonctionnement. Que sait-on des structures impliquées dans les mémoires déclarative et non-déclarative?

1.2.2.1. Pour la mémoire déclarative

Dans le cas du patient H.M, la lésion du lobe temporal a eu pour conséquence de détruire irrémédiablement sa mémoire déclarative. On sait depuis que l'hippocampe joue un rôle indispensable dans la formation de la mémoire déclarative (pour revue, voir Eichenbaum, 2000, 2001). Et les exemples de lésions de différentes structures entraînant des déficits mnésiques sur tel ou tel type de mémoire ne manquent pas. Seulement, ce schéma pourrait laisser croire qu'à une structure donnée correspond une fonction ou un type de mémoire, ce qui est réducteur et faux. Par exemple, il semble acquis maintenant que si l'intégrité de l'hippocampe est nécessaire à la mémoire déclarative, il n'est pas la seule structure impliquée. En effet, elle nécessite également l'intégrité de certaines structures diencéphaliques au niveau du thalamus médian (Zola-Morgan et Squire, 1993). Dans le lobe temporal également, l'hippocampe n'est pas la seule structure importante. Il appartient à ce qui est appelé formation hippocampique, qui comprend l'hippocampe dorsal, le gyrus denté, le complexe subiculaire et le cortex entorhinal. Ces structures sont nécessaires à la mémoire déclarative. A la formation hippocampique s'ajoutent également certains cortex adjacents et anatomiquement connectés, le cortex périrhinal et parahippocampique (Squire et Zola-Morgan, 1991). Certains auteurs ont proposé que l'hippocampe sous-tendrait uniquement la mémoire épisodique alors que les cortex adjacents, périrhinal et entorhinal en tête, sous-tendraient la mémoire sémantique. Ces conclusions ont été tirées de l'étude d'enfants nés sans hippocampe, qui souffrent de déficits sévères de mémoire épisodique mais ont une mémoire sémantique relativement préservée puisqu'ils sont capables de suivre une scolarité quasi-normale. La mémoire sémantique serait prise en charge par les structures parahippocampiques (Vargha-Khadem et collaborateurs, 1997). Enfin, la mémoire épisodique nécessiterait en plus l'intégrité du lobe frontal (Shinamura et Squire, 1987; Knowlton et Squire, 1995). Par ailleurs, on sait que la mémorisation sera facilitée si le stimulus à mémoriser a une composante émotionnelle, qui implique l'amygdale (Cahill et McGaugh, 1998). On peut donc constater que le vocable *mémoire déclarative* fait référence à l'implication d'une multitude de structures cérébrales qui agissent de concert. Et chacun des deux types de mémoire est sous-tendu par son propre réseau de structures, qui implique aussi les cortex primaires qui ont servi lors du traitement sensoriel du stimulus.

Cependant, pour comprendre plus précisément les mécanismes sous-tendant les processus mnésiques, l'approche chez l'homme est rapidement rendue difficile par des

problèmes techniques et bien évidemment éthiques. D'où l'utilité des modèles animaux. Le cas de la mémoire déclarative pose problème chez les animaux car il n'est bien sûr pas possible de les interroger de façon verbale. Partant de ce constat, les études chez l'animal se sont focalisées sur l'étude des conséquences de lésions cérébrales, notamment l'hippocampe et les cortex avoisinants, dans différents apprentissages.

L'une des études pionnières destinées à développer un modèle animal de l'amnésie humaine a été réalisée par Mortimer Mishkin en 1978, chez le singe. Dans cette étude, les animaux devaient apprendre une tâche de *non-appariement retardé*. Cette tâche, qui a longtemps constitué le modèle d'étude par excellence de la mémoire déclarative, consiste à présenter un objet à l'animal. Après un délai variable, deux objets sont présentés à l'animal : l'objet précédent et un objet nouveau. L'animal doit alors choisir le nouvel objet pour être récompensé. L'étude de Mishkin (1978) montre que les singes porteurs de lésions comparables à celles du patient HM présentent un déficit dont les caractéristiques rappellent celles de l'amnésie de ce patient. Ces résultats furent confirmés par Alvarez, Zola-Morgan et Squire (1994) qui ont montré que la lésion de la formation hippocampique et du cortex parahippocampique entraînait chez le singe un déficit de mémorisation à long terme mais épargnait la mémoire à court terme. Les études ultérieures ont cherché à déterminer la contribution respective des différentes structures temporales aux fonctions mnésiques. Ainsi les travaux de Meunier et al (1993) ont montré qu'à l'intérieur du lobe temporal médian, le cortex rhinal et en particulier la région périrhinale jouait un rôle clé dans la mémoire mis en jeu dans la tâche de non-appariement retardé. Le débat issu de ces travaux chez le singe porte aujourd'hui sur le rôle réel de la formation hippocampique : pour certains, il est mineur (Meunier, Hadfield, Bachevalier et Murray, 1996) alors que d'autres le considèrent qualificativement équivalent au cortex rhinal (Squire, 2004).

Chez le rat comme chez le singe différents travaux ont cherché à mettre en évidence le rôle de l'hippocampe et des cortex parahippocampiques dans différents types d'apprentissages. L'hippocampe serait par exemple nécessaire à l'apprentissage de séquences temporelles (Fortin, Agster et Eichenbaum, 2002). Ainsi des lésions du cortex orbitofrontal entraînent des déficits d'acquisition de la tâche de non-appariement retardé, laissant supposer un rôle de cette structure dans les processus perceptuels ou dans l'acquisition des règles de la tâche. A l'inverse, des rats avec une lésion du cortex parahippocampique acquièrent normalement la tâche mais se révèlent incapables de l'accomplir correctement dès que le délai augmente entre les deux présentations. Ces données laissent supposer que cette structure est importante dans le maintien d'une représentation active du stimulus en mémoire (Otto et Eichenbaum, 1992a).

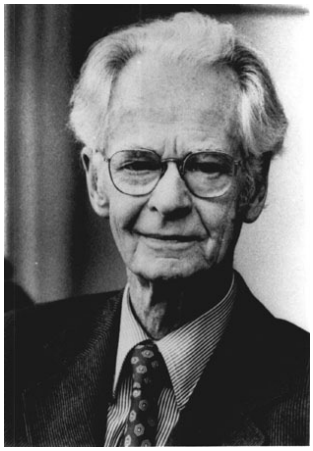
Chez le rat, comme chez le singe et chez l'homme, l'hippocampe joue donc aussi un rôle clé dans la mémoire déclarative mais que cette structure agit de concert avec de nombreuses autres pour accomplir une tâche mnésique, c'est-à-dire pour encoder une information et la restituer au besoin (pour revue, voir Eichenbaum, 2000).

Ce survol de quelques expériences effectuées chez l'animal montre qu'en lésant les mêmes structures que certains patients amnésiques, il est possible, à l'aide de tâches adaptées, de reproduire expérimentalement les déficits mnésiques et ainsi cerner plus précisément les structures importantes. On peut donc voir que la mise en mémoire déclarative d'une information chez l'animal implique un réseau de structures, à la fois limbiques (structures hippocampiques), et corticales (cortex frontal, parahippocampique…), qui sont impliquées à différents moments et différentes étapes

1.2.2.2. Pour la mémoire non-déclarative

D'après la dichotomie de Squire (2004), la mémoire non-déclarative ne ferait pas intervenir les structures du lobe temporal mais un grand nombre de structures extrêmement variées et distribuées dans le cerveau (voir Figure 1.5). Parmi ces différentes formes de mémoire, notons la présence des mémoires émotionnelles impliquant l'amygdale dans le cas des apprentissages de peur. Je n'en parlerai pas pour le moment puisque j'y reviendrai bien plus en détails dans les troisième et quatrième chapitres. Voyons ensemble un exemple d'apprentissage non-déclaratif qui nous sert sans cesse, le conditionnement opérant.

Dans la vie courante, nous apprenons sans cesse à associer des stimuli selon des règles arbitraires. Par exemple, nous avons appris à associer la vue d'un feu rouge à un mouvement d'appui sur la pédale de frein lorsque nous conduisons et nous savons aussi que nous devons porter le combiné à notre oreille lorsque le téléphone sonne. Nous avons aussi appris à associer la forme d'une lettre que nous lisons au mouvement de la bouche nécessaire pour la prononcer. Ces exemples simples et très récurrents piochés dans nos vies quotidiennes nous permettent d'apprécier l'intérêt de tels apprentissages car on comprend bien qu'à la base, rien ne justifie de telles associations et pourtant, nous sommes néanmoins capable de les apprendre et de les effectuer sans même y réfléchir par la suite. Ce qui se révèle pratique et vital lorsque nous freinons de toutes nos forces pour éviter un danger sans avoir eu à y réfléchir auparavant.



Portrait 7
Friedrich Skinner
(1904-1990))

Pour étudier les bases neuronales sous-tendant ce genre d'apprentissage, le modèle le plus couramment utilisé est le *conditionnement opérant* (ou *instrumental*) ou *conditionnement de Skinner*, du nom de son créateur, Frederich Burrhus Skinner (1904-1990, voir Portrait 7). Fervent comportementaliste (*behavioriste*), ce psychologue américain pensait que la raison du comportement humain trouvait sa réponse dans les conditions environnementales. Selon lui, dans une situation nouvelle, l'homme régira par un certain comportement. Si ce comportement est adapté à la situation et lui procure une récompense, alors dans une situation identique, la probabilité qu'il le réitère est augmentée. A l'inverse, si son comportement lui procure un désagrément, alors, il ne le reproduira plus. Ainsi, dans une situation nouvelle, l'homme réagira par essais et erreurs. Dans le conditionnement de Skinner (Skinner, 1938), un rat mis en restriction alimentaire est placé dans une cage, dite *boîte de Skinner*, qui contient un levier. Lorsqu'il appuie dessus, une boulette de nourriture est délivrée, ce qui représente un stimulus hautement positif pour un rat affamé. Ainsi, placé dans cette cage, le rat va l'explorer et, après un certain temps, appuyer par hasard sur le levier, déclenchant l'arrivée de la boulette. Au bout d'un certain nombre d'essais, le rat, qui va comprendre l'association qui existe entre l'appui sur le levier et la distribution de nourriture, passera la majeure partie de son temps dans la cage à appuyer sur le levier. Dans cette expérience, l'administration de l'agent renforçateur (boulette) modifie la probabilité d'émission du comportement qui la précède (appui).

L'utilisation de modèles animaux pour ce type d'apprentissage associatif a permis de mettre en évidence un vaste réseau de structures, différent de celui impliqué dans la mémoire déclarative. Ainsi, une structure semble importante, le striatum (pour revue, voir Packard et Knowlton, 2002 ; Yin et Knowlton, 2006). Des études effectuées chez le rat montrent que la lésion du striatum (Brasted, Döbrössy, Robbins et Dunnett, 1998) altère l'expression d'un conditionnement opérant, de même que l'injection de scopolamine, un antagoniste cholinergique, dans le néostriatum empêche l'acquisition de cet apprentissage, alors que la même injection effectuée quand l'animal a bien appris et maîtrise parfaitement la tâche reste sans effet. L'innervation cholinergique dans le striatum serait donc nécessaire au cours de l'acquisition mais pas du rappel (Tikhonravov, Shapovalova, Dyubkacheva, 1997). D'autres structures semblent également importantes: la lésion du noyau accumbens empêche l'augmentation de la réponse d'appuis pour faire tomber les boulettes (de Borchgrave,

Rawlins, Dickinson, Balleine, 2002). Selon ces auteurs, ce noyau rendrait possible l'association entre l'arrivée du stimulus positif (la boulette) et l'appui préalable sur le levier. Enfin, le cortex préfrontal (CPF) serait également impliqué au cours de l'accomplissement de ce genre de conditionnement (pour revue, voir Mulder, Nordquist, Örgüt et Pennartz, 2000). Chez le singe, de nombreuses études sur les conditionnements opérants, impliquant généralement un conditionnement d'ordre visuomoteur, ont mis en lumière l'implication des structures fronto-striatales, c'est-à-dire du striatum et du CPF, notamment la division ventrolatérale (pour revue, voir Hadj-Bouziane, Meunier et Boussaoud, 2003). Ces données chez le singe corroborent celles obtenues chez des patients humains présentant certaines pathologies, que ce soit des patients parkinsoniens ou avec la chorée de Huntington, qui montrent des déficits d'apprentissages visuo-moteurs.

Ces quelques résultats montrent que, tout comme la mémoire déclarative, la mémoire non-déclarative utilise un vaste réseau de structures qui lui sont propres, avec, notamment, une faible implication de l'hippocampe.

1.2.3. Comment nos souvenirs sont-ils stockés ? La notion de plasticité.

Comme nous allons le voir maintenant, le cerveau n'est pas figé une fois pour toute. Au même titre qu'un entraînement physique va induire des modifications corporelles, ce qui se passe dans le cerveau à tout instant y laisse des *traces*. C'est ce que l'on appelle la plasticité cérébrale. Le cerveau est plastique, c'est-à-dire qu'il peut se modifier suite aux apprentissages, et ce, de différentes façons: à des niveaux très locaux, c'est le cas des synapses, ou à des niveaux plus globaux, c'est le cas des systèmes de structures. Voyons ensemble ce que l'on sait de ces mécanismes.

1.2.3.1. Rôle de la plasticité synaptique ?

La plasticité synaptique est le modèle actuel le plus satisfaisant pour expliquer comment le cerveau garde une trace d'un apprentissage. Qu'est-elle exactement?

1.2.3.1.1. La potentialisation à long terme

La conception actuelle de la mémoire est que le support neurobiologique de la formation d'un souvenir serait assurée par des modifications durables, augmentation ou diminution, de l'efficacité synaptique au sein du réseau concerné. Cette augmentation d'efficacité synaptique pourrait constituer la trace de l'apprentissage au niveau neuronal (Lamprecht et LeDoux, 2004; Maren, 1999a; Maren et Baudry, 1995; Martin, Grimwood et Morris, 2000; Martin et Morris, 2002).

En 1973, conscients des travaux de Brenda Milner sur le patient H.M et le rôle de l'hippocampe dans la mémoire, Tim Bliss et Terje Lømo (Bliss et Lømo, 1973) ont cherché à comprendre comment les neurones peuvent stocker une information. Pour cela, ils ont effectué une expérience sur l'hippocampe de lapins anesthésiés : ils ont tout d'abord enregistré la réponse de cette structure temporale à une stimulation électrique de la voie perforante, qui est la voie d'entrée majeure de l'hippocampe. Ils ont alors appliqué une stimulation tétanisante, c'est-à-dire à haute fréquence de cette voie, et ont observé une augmentation de la réponse induite dans l'hippocampe, qu'ils ont interprétée comme une facilitation de la transmission synaptique. Cette augmentation durait des heures et même des semaines chez un animal vigile. Cette facilitation, appelée *potentialisation à long terme* (PLT) a depuis été mise en évidence dans de nombreuses structures et espèces (pour revue, voir Goosens et Maren, 2002; Martin et Morris, 2002).Bien qu'obtenue artificiellement, la PLT est encore considérée aujourd'hui comme le meilleur candidat pour le stockage de la trace mnésique, bien qu'il ne soit pas encore admis de façon consensuelle que *PLT = mémoire* (Stevens, 1998).

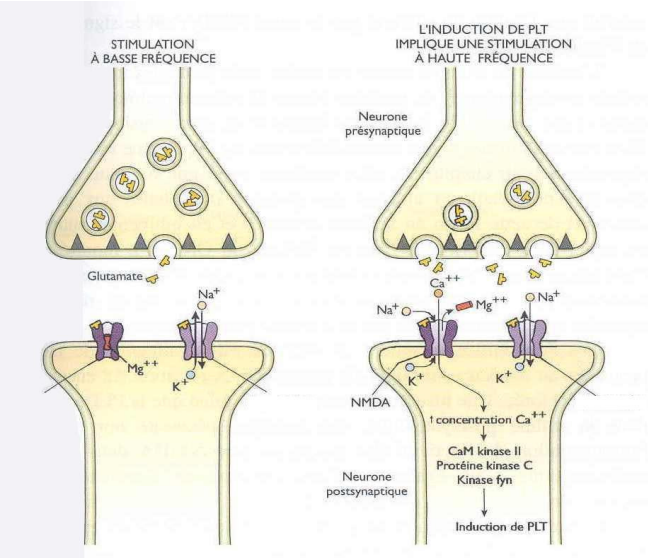


Figure 1.6
La potentialisation à long-terme
(d'après Squire et Kandel, 2002)

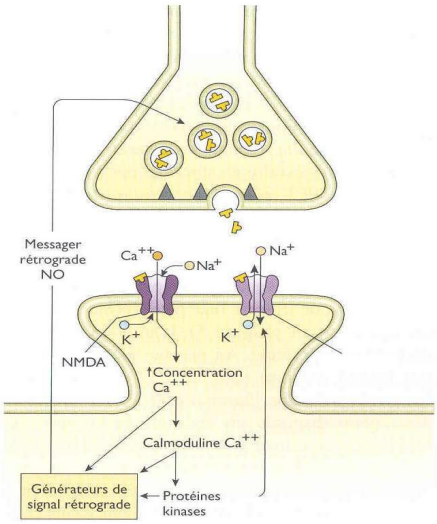


Figure 1.7
Exemple de signaux rétrogrades
(d'après Squire et Kandel, 2002)

De nombreuses études ont mis en évidence le rôle primordial du glutamate dans les phénomènes de PLT (pour revue, voir Martin, Grimwood et Morris, 2000; Martin et Morris, 2002). Le glutamate agit sur deux types de récepteurs glutamatergiques, les récepteurs AMPA (acide α-amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazole-propionique) et NMDA (N-méthyl-D-aspartate) (Bashir et collaborateurs, 1993). En conditions normales, la transmission synaptique se fait par la fixation de glutamate sur les récepteurs AMPA. La transmission synaptique par les récepteurs NMDA est empêchée par un bouchon de magnésium (voir Figure 1.6 gauche), qui ne peut être délogé que lors d'une très forte dépolarisation. Cette dépolarisation peut être obtenue artificiellement par stimulation à haute fréquence ou, pense-t-on, naturellement au cours d'un apprentissage. Lors d'une très forte sécrétion de glutamate, le bouchon magnésium est ôté, permettant l'entrée de calcium dans la cellule (voir Figure 1.6 à droite) (Gustafsson et Wigström, 1988). Cette entrée de calcium par le récepteur NMDA va avoir de nombreuses conséquences biochimiques à l'intérieur de l'élément post-synaptique, entraînant un renforcement durable de transmission synaptique (Lynch, Kessler, Arai et Larson, 1990). Ce renforcement se fait à la fois par des modifications de l'élément post-synaptique, avec des changements de propriétés des récepteurs glutamatergiques (Soderling, 1996), ainsi qu'une augmentation du nombre de récepteurs, du nombre de synapses… mais également via des signaux rétrogrades qui modifient l'élément présynaptique et entraîne une plus grande probabilité de libération de

glutamate par les vésicules (Bolshakov et Siegelbaum, 1995). L'un de ces signaux serait le monoxyde d'azote (NO) (voir Figure 1.7). Il est capable de diffuser librement entre les cellules mais avec une durée de vie ne lui permettant d'agir que dans un rayon très limité, c'est-à-dire quelques cellules post-synaptiques adjacentes (Arancio, Lev-Ram, Tsien, Kandel et Hawkins, 1996; Schuman et Madison, 1994).

L'ensemble de ces données montrent que la PLT est un candidat sérieux comme support de la mémoire à long terme puisque suite à une stimulation à haute fréquence, le réseau va être modifié de façon durable, ce qui aura pour conséquence qu'une même stimulation l'activera plus après apprentissage qu'avant. Cela prouve que les neurones cérébraux possèdent toute la machinerie nécessaire pour entraîner ces phénomènes de plasticité synaptique. En ce sens, la PLT répond au postulat de Hebb (1949) qui disait que "*lorsqu'un axone d'une cellule A excite une cellule B et joue un rôle dans sa décharge de façon répétée ou persistante, certains processus de développement ou certaines modifications métaboliques surviennent dans une ou dans les deux cellules de telle façon que l'aptitude de A à exciter B est augmentée*".

1.2.3.1.2. Potentialisation à long terme et apprentissages

Par définition, la PLT est un phénomène obtenu par une stimulation à haute fréquence de la voie d'entrée d'une structure cérébrale. Comme nous l'avons vu, ce mécanisme est un candidat sérieux à la mémoire à long terme… mais encore faut-il démontrer qu'un tel phénomène existe naturellement et est corrélé à l'apprentissage chez l'animal car "*si la correspondance entre PLT et apprentissage naturel est de plus en plus évidente, il reste à prouver que la première est à la base du second*" (LeDoux, 1996, p.216).

Depuis sa mise en évidence chez le lapin, de nombreux chercheurs sont donc partis en quête de mécanismes analogues induits par apprentissage. Pour la suite, je regrouperai sous le vocable PLT les mécanismes *sensu stricto*, c'est-à-dire obtenus par des stimulations électriques et les mécanismes équivalents obtenus naturellement. Les exemples d'inductions naturelles de PLT suite à un apprentissage sont nombreux dans la littérature (par exemple, voir Morris, Anderson, Lynch et Baudry, 1986 pour une PLT dans l'hippocampe liée à un apprentissage spatial; pour revue, voir Laroche, 2001a et 2001b ; Maren et Baudry, 1995; Martin et Morris, 2002). Ce ne sont cependant que des corrélats de l'apprentissage, pas une preuve directe d'une relation causale entre PLT et mémoire. Pour apporter cette preuve, le

meilleur moyen est de moduler l'activité des récepteurs NMDA, supposés sous tendre la PLT, ou de moduler l'activité intracellulaire induite par leur activation.

Ainsi, Davis, Butcher et Morris (1992) ont montré que l'injection intrahippocampique d'acide aminophosphonovalérique, d'un antagoniste spécifique des récepteurs NMDA, c'est-à-dire qui ne perturbe pas les récepteurs AMPA et donc la transmission synaptique, empêche un apprentissage spatial. Sur tranche, cette drogue rend impossible l'induction de PLT dans leur hippocampe. Ils ont par ailleurs montré que plus la concentration d'antagoniste était importante et plus la plasticité synaptique diminue et plus les déficits mnésiques augmentent. L'apport de modèles génétiques (souris présentant une délétion ou une surexpression de certains gènes) fut également crucial dans la validation du modèle de PLT via les récepteurs NMDA. Ainsi, des souris qui n'expriment pas le récepteur NMDA dans l'hippocampe montrent des déficits dans les apprentissages spatiaux ainsi qu'une abolition de la PLT dans cette structure (McHugh, Blum, Tsien, Tonegawa et Wilson, 1996). A l'inverse, la surexpression du récepteur NMDA résulte en une nette augmentation des performances mnésiques, spatiales et non spatiales (Tang et collaborateurs, 1999). Ces quelques exemples indiquent qu'il existe un lien probable entre les récepteurs NMDA, la plasticité synaptique et la mémorisation à long terme de cet apprentissage. Cependant, des souris n'exprimant pas de récepteurs NMDA dans l'hippocampe mais élevées dans un environnement enrichi, c'est-à-dire comportant de nombreuses stimulations sensorielles (tunnels, roues, cordes…) peuvent compenser les déficits résultants de cette particularité génétique. La mise en mémoire d'une information ne peut donc se résumer aux récepteurs NMDA.

1.2.3.2. Rôle de la plasticité des systèmes ?

A un niveau moins local que la synapse, des modifications de l'implication de certaines structures cérébrales, c'est-à-dire des changements des réseaux de structures impliqués, pourraient rendre compte, selon certains auteurs, des mécanismes de mémorisation à long terme des souvenirs.

1.2.3.2.1. Modèle classique de la plasticité des systèmes

D'après ce modèle, les réseaux de structures impliqués à différents moments d'un apprentissage, que ce soit pour son encodage ou son rappel longtemps après, ne sont pas les mêmes. En d'autres termes, ces réseaux évoluent au cours du temps.

1.2.3.2.1.1. Mise en évidence chez l'homme

La théorie classique de plasticité des systèmes a été élaborée très tôt suite aux études sur le patient H.M. Dès 1966, Brenda Milner (1966) a proposé cette théorie en remarquant que les mémoires anciennes de H.M. pouvaient être rappelées malgré l'absence du lobe temporal. Aujourd'hui, le modèle classique propose que le rôle du lobe temporal serait d'être une interface indispensable mais temporaire de stockage de l'information (McGaugh, 2000; Squire, Knowlton et Musen, 1993). L'information serait ensuite transférée pour être stockée sous forme stable et durable dans le néocortex. Ainsi "*lorsque le temps passe après l'apprentissage, il y a une réorganisation du stockage à long-terme de la mémoire, dans laquelle l'importance de la formation hippocampique diminue graduellement alors que se développe un système de mémoire permanente indépendante de cette structure*" (Squire et Alvarez, 1995). Cette notion de consolidation de la mémoire, c'est-à-dire la transition d'un système dépendant à un système indépendant de l'hippocampe est le concept de *plasticité des systèmes*. Cette plasticité des systèmes expliqueraient pourquoi les souvenirs anciens du patients H.M sont préservés : la mémoire aurait été consolidée dans les structures néocorticales et ne serait donc pas affectée par la perte de l'hippocampe. Selon ce concept, le stockage en une mémoire indépendante du lobe temporal se ferait par un renforcement des connections intra et inter corticales (Alvarez et Squire 1994). Toutefois, ce processus lent prendrait plusieurs années (Squire et Alvarez, 1995). Dans une expérience d'imagerie fonctionnelle chez des sujets sains, Haist, Gore et Mao (2001) se sont intéressés à l'implication de plusieurs structures du lobe temporal dans la reconnaissance de visages célèbres des années 40 à nos jours, notamment du cortex entorhinal qui est la voie d'afférences et d'efférences majeures entre la formation hippocampique et le néocortex (Witter, Wouterlood, Naber et Van Haeften, 2000). Ils ont remarqué que cette structure est impliquée dans le rappel des personnages célèbres récents et que son implication diminue au fur et à mesure que les personnes sont devenues célèbres tôt, c'est-à-dire que leur visage est

encodé depuis longtemps. Les auteurs proposent que ce cortex soit une structure importante dans la consolidation de la mémoire d'un système dépendant de l'hippocampe à un système indépendant de l'hippocampe.

1.2.3.2.1.2. Mise en évidence chez l'animal

Les études réalisées chez l'animal ont permis de confirmer et aussi d'approfondir la théorie de la plasticité des systèmes. Dans deux études complémentaires, Bontempi, Laurent-Demir, Destrade et Jaffard (1999) à l'aide de la méthode 2-DG et Maviel, Durkin, Menzaghi et Bontempi (2004) en marquage des gènes d'activation précoce zif-68 et c-fos ont fait effectuer des tests d'apprentissage spatial à des souris, apprentissage qui dépend de l'hippocampe. L'activation cérébrale fut mesurée lorsque la mémoire était récente (un jour) ou ancienne (vingt-cinq jours ou plus) afin de mettre en évidence une modification des réseaux de structures impliquées dans le rappel. Les résultats ont montré l'implication de l'hippocampe dorsal et ventral, du subiculum, du cortex entorhinal et du cortex cingulaire postérieur lors du rappel d'une mémoire récente. Lorsque la mémoire rappelée est ancienne, le réseau est différent puisqu'il inclut le CPF, le cortex cingulaire antérieur et le cortex rétrosplénial. Pour s'assurer du rôle réel de ces structures, Maviel, Durkin, Menzaghi et Bontempi (2004) ont injecté de la lidocaïne à différents moments: l'anesthésie de l'hippocampe et du cortex cingulaire postérieur perturbe le rappel de mémoires récentes alors que celle de du CPF et du cortex cingulaire antérieur ne perturbe que les mémoires anciennes. Ces résultats tout à fait remarquables sont une preuve expérimentale chez l'animal que la mémoire, dans le cas d'une tâche dépendante de l'hippocampe, implique tout d'abord l'hippocampe et cortex cingulaire postérieur, puis se consolide en dehors de ces structures, dans le cortex cingulaire antérieur, le CPF et le cortex rétrosplénial. Elle devient alors indépendante de l'hippocampe.

La conclusion de toutes ces études est que dans le cas de la mémoire déclarative, la formation hippocampique est indispensable dans l'encodage de l'information. Cependant, son importance diminue avec le temps et, probablement en partie via le cortex entorhinal, l'information est *transférée* dans les structures néocorticales. Au vu de l'importance des amnésies rétrogrades observées chez les patients, ce phénomène de consolidation prendrait plusieurs années chez l'homme.

1.2.3.2.2. Le modèle alternatif de Nadel et Moscovitch

Récemment, Nadel et Moscovitch (1997) ont proposé une alternative à ce modèle. Selon eux, ces structures qui sont impliquées dans l'encodage de l'information le sont en fait tout au long de la vie, sans distinction de temps (pour revue, voir Nadel et Moscovitch, 2001). En étudiant attentivement les résultats de rappel des mémoires anciennes chez des patients avec des lésions du lobe temporal, il semblerait que ces patients ne soient pas capables de mentionner autant de détails que ne le font les sujets témoins (Nadel, Samsonovitch, Ryan et Moscovitch, 2000; Viskontas, McAndrews et Moscovitch, 2000). Par ailleurs, au cours d'étude en imagerie par résonance magnétique fonctionnelle, le rappel de mémoires anciennes activerait l'hippocampe de la même façon que des mémoires plus récentes (Ryan et collaborateurs, 2001).

De plus, une étude parue sur un patient avec une lésion localisée uniquement sur l'hippocampe et pas sur les structures adjacentes est venue appuyer leur théorie (Cipolotti et collaborateurs, 2001). Ce patient montre des déficits de mémoire épisodique sur une période de plus de quarante ans antérieure au début de l'amnésie mais souffre de déficits en mémoire sémantique moins marqués. Cette étude souligne deux points importants: premièrement, la mémoire épisodique serait prise en charge par l'hippocampe, comme proposé par Vardha-Khadem et collaborateurs (1997) (voir détail de l'expérience au paragraphe 1.2.2.1). Deuxièmement, l'hippocampe est nécessaire au rappel de la mémoire même quarante ans plus tard, ce qui contredit le modèle classique.

Les auteurs ont donc proposé que l'hippocampe serait réactivé à chaque rappel conscient d'évènements pour revivre en détails les expériences passées ainsi que pour chaque rappel de mémoire spatiale afin de mettre à jour les différents souvenirs (Moscovitch, Nadel, Winocur, Gilboa et Rosenbaum, 2006). Ces arguments vont donc à l'encontre de ceux du modèle classique. A ce jour, il n'existe toujours pas de réponse définitive à ce débat. Gardons juste à l'esprit qu'il faut toujours savoir garder une certaine distance avec n'importe quelle théorie qui fait consensus et est avérée comme exacte à un moment.

1.2.4. Petit bilan de la mémoire

De l'ensemble de ces expériences, une idée principale émerge: il est probablement illusoire de chercher un centre localisé de la mémoire dans le cerveau, puisque l'on a pu se rendre compte à quel point un apprentissage implique un très grand nombre de structures, qui peuvent être en partie les mêmes que d'autres types d'apprentissages. Il est donc vain de réduire un type de mémoire à une structure sous-jacente. D'autant plus que l'implication de ces structures, comme nous l'avons vu, pourrait évoluer au cours du temps. On parle donc de réseaux de structures des mémoires.

Le type de schéma proposé par Squire (2004) est extrêmement simplifié puisqu'il est basé sur des séparations nettes entre les différents types de mémoire alors que dans les faits, plusieurs systèmes de mémoires fonctionnent de concert en même temps. Si par exemple on vous demande ce que le mot *raclette* vous évoque, vous êtes sans doute capable de donner la recette, les différents ingrédients qui la composent ou encore les ustensiles nécessaires. Ces notions appartiennent à votre mémoire sémantique. Mais en plus, vous serez sûrement capables de vous rappeler la dernière fois où vous en avez mangé, si c'était avec des amis ou seul chez vous, bref, vous utiliserez votre mémoire épisodique en plus de votre mémoire sémantique pour répondre à ce genre de questions.

La conclusion de tout ça, qui est également une conclusion plus générale sur les sciences, est que les séparations scientifiques en modules distincts correspondent très souvent à des facilitations de pensées concernant des phénomènes biologiques souvent bien plus compliqués. Les différentes mémoires ne sont certainement pas indépendantes ni ne fonctionnent en parallèle sans interactions mais pour imaginer ces phénomènes, il est plus pratique de se les représenter de la sorte.

Comme nous avons pu le voir brièvement, les hypothèses élaborées proviennent en partie des études chez l'homme, souvent chez des patients avec des lésions, mais sont très souvent corroborées ou proposées suite aux travaux sur des modèles animaux. Ainsi, pour tester les hypothèses qu'il existe plusieurs types de mémoire, sous-tendues par différentes structures qui fonctionnent en réseau, que le rôle de ces structures varie au cours du temps et pour comprendre plus précisément les mécanismes neurobiologiques qui sous tendent les phénomènes de mémorisation, de stockage et de rappel d'une information, le recours aux modèles animaux s'est révélé indispensable. Le paragraphe suivant montrera que, si pour comprendre l'homme, comprendre l'animal se révèle sinon indispensable, au moins

terriblement utile, cela ne peut se passer sans respect de l'animal que l'on sacrifie pour étancher nos soifs de connaissances. Faisons, si vous le voulez bien, un aparté sur les problèmes éthiques posés par l'expérimentation animale.

1.3. Modèles animaux et problèmes éthiques

"*La grandeur d'une nation et ses progrès moraux peuvent se juger à la façon dont elle traite les animaux*" Gandhi.

1.3.1. Intérêts des modèles animaux de la mémoire: vers une compréhension de l'être humain ?

Au travers des quelques modèles animaux choisis ci-dessus pour illustrer les différentes théories, une idée primordiale ressort: on peut appliquer à l'animal des méthodes d'investigation afin d'explorer les réseaux neuronaux que l'on suppose sous-tendre les processus mnésiques chez l'homme car "*notre compréhension de l'humain passe par une interprétation de la manière dont nous nous rapprochons, ou différons, d'autres animaux*" (LeDoux, 1996, p.19). En effet, les très fortes homologies existant entre les circuits neuronaux chez les mammifères permettent, à l'aide de protocoles adaptés, d'explorer plus finement les mécanismes de la mémoire par l'utilisation d'approches qu'il est techniquement et surtout plus fréquemment éthiquement impossible d'employer chez l'homme. Par exemple, Jaffard et collaborateurs (2000) considèrent "*qu'il existe des similitudes opératoires entre les formes les plus évoluées de la mémoire animale et humaine ainsi qu'une certaine continuité dans les fonctions de la formation hippocampique entre ces espèces*". Parmi ces techniques, citons, de façon non exhaustive, les enregistrements électrophysiologiques, les méthodes de lésion, la biologie moléculaire, l'usage de substances pharmacologiques, l'imagerie cellulaire et fonctionnelle, la génétique, que ce soit l'étude de marqueurs génétiques ou la création de lignées d'animaux avec la délétion (souris knock-out par exemple) ou la surexpression d'un gène, la biochimie… L'éventail de techniques à la disposition du chercheur ne cesse de croître, celles-ci sont de plus en plus perfectionnées et sophistiquées et, en cela, l'utilisation de modèles animaux se révèle une formidable source de connaissances et d'espoirs pour

comprendre et soigner l'être humain. L'intérêt de ces modèles trouve sans doute sa légitimité, au moins du point de vue des chercheurs, dans le fait que "*l'histoire de la biologie et de la médecine montre que leur (les connaissances) développement est indissociable de la pratique de l'expérimentation animale*" (Tambourin, 1982). Par ailleurs, ces modèles ne sauraient trouver leur utilité que dans la confrontation de leurs résultats à ceux obtenus chez l'homme, en psychologie, mesures psychophysiques, psychopathologie, imagerie fonctionnelle, électro-encéphalogramme… Et tout ceci ne saurait se passer sans respect des animaux présents dans les laboratoires de recherche.

1.3.2. Aspects législatifs de l'éthique animale en laboratoire

Bien que ce débat soit loin du sujet initial de cette thèse, arrêtons nous un moment sur la question de l'expérimentation animale. Georges Chapoutier fait remarquer que longtemps influencé par l'omniprésence de la pensée chrétienne et de la Bible, "*l'essentiel de la philosophie occidentale dont nous sommes les héritiers a affirmé jusqu'à une date très récente, les droits absolus de l'homme sur l'animal*" (Chapoutier, 1990). Cela est particulièrement vrai en France où la pensée scientifique a très longtemps été influencée par la pensée cartésienne. Ainsi, dans le *Discours de la méthode*, René Descartes (1637) stipule que "*[…] ceci ne témoigne pas seulement que les bêtes ont moins de raison que les hommes mais qu'elles n'en ont pas du tout*". Dans sa pensée philosophique, l'animal est inférieur à l'homme car, dit il, "*il n'est pas croyable qu'un singe ou un perroquet, qui serait des plus parfaits de son espèce, n'égalât en cela un enfant des plus stupides, ou du moins un enfant qui aurait le cerveau trouble […]*". De ce point de vue, l'homme (même le plus stupide), qui est supérieur à l'animal (même le plus intelligent), peut donc en user à sa guise. Et l'approche de la relation homme/animal en sciences a longtemps découlé de cette philosophie. Fort heureusement, aujourd'hui, l'utilisation des animaux dans un but de recherche est sévèrement règlementée au niveau national par le Décret n° 2001-486 du 6 juin 2001 portant publication de la Convention européenne sur la protection des animaux vertébrés utilisés à des fins expérimentales ou à d'autres fins scientifiques, adoptée à Strasbourg le 18 mars 1986 et signée par la France le 2 septembre 1987 (J.O du 13 février 2001, p. 2369 - 2395). Ce décret d'application reprend la Directive du Conseil européen (n° 86/609/CEE), du 24 novembre 1986, concernant le

rapprochement des dispositions législatives, réglementaires et administratives des Etats membres relatives à la protection des animaux utilisés à des fins expérimentales ou à d'autres fins scientifiques (J.O. CE, n° L358 du 18 décembre 1986). En substance, il définit les conditions d'élevage et d'expérimentation des animaux vertébrés, leur confère des droits et impose des devoirs de dignité et de respect de la part des expérimentateurs. Lisons le préambule du décret n° 2001-486:

"*[…] Reconnaissant que l'homme a l'obligation morale de respecter tous les animaux et de prendre dûment en considération leur aptitude à souffrir et à se souvenir;*

Reconnaissant toutefois que l'homme, dans sa quête de connaissance, de santé et de sécurité, a besoin d'utiliser des animaux lorsqu'on peut raisonnablement espérer que cela fera progresser la connaissance, ou produira des résultats utiles d'une façon générale pour l'homme ou pour l'animal, au même titre qu'il utilise les animaux pour se nourrir, pour se vêtir et comme bêtes de somme;

Résolus à limiter l'utilisation des animaux à des fins expérimentales ou à d'autres fins scientifiques, avec pour finalité de remplacer cette utilisation partout où cela est possible, notamment en recherchant des méthodes de substitution et en encourageant le recours à ces méthodes de substitution;

Souhaitant adopter des dispositions communes, afin de protéger les animaux utilisés dans des procédures susceptibles de provoquer des dommages durables, des douleurs, des souffrances ou de l'angoisse et d'assurer que ceux-ci, lorsqu'ils sont inévitables, soient réduits au minimum […]".

Ce préambule s'appuie donc clairement sur trois principes: 1) il est du devoir du chercheur de prendre en compte la douleur des animaux et de la diminuer autant que faire se peut, 2) dans la mesure du possible, l'utilisation de méthodes alternatives devra être privilégiée (travail sur des cellules souches, sur les invertébrés…) et enfin, 3) il devra limiter au maximum le nombre d'animaux nécessaire aux expériences. Ces recommandations relevant de la communauté européenne ne sont pas les seules puisqu'il existe également au niveau international un code d'éthique dans l'approche expérimentale, le Guides d'Utilisation et de Soins aux Animaux (Animal Care and Use Guidance) dans lequel est clairement stipulé que "*chaque fois qu'une vie animale doit être ôtée, elle doit l'être dans le plus grand respect*" (Demers et collaborateurs, 2006).

Il est donc de la responsabilité du chercheur de veiller au bien être de ses animaux. Bien plus encore, cela relève d'un devoir moral.

1.3.3. Du respect de l'animal de laboratoire

Et cette responsabilité est bien plus grande encore à l'heure où, partout sur le net, circulent des campagnes que je qualifierais de désinformation sur les apports de l'expérimentation animale à la santé humaine. Prenons une pensée de tenants de discours anti-vivisectionnistes qui commence comme ceci (je ne peux, bien évidemment, pas citer le lien): "*[…] depuis toujours, la vivisection a été un frein à l'amélioration de la santé humaine, de la prise en compte de la douleur et de l'hygiène hospitalière*". Dans le même article, il est mentionné que "*les véritables raisons qui expliquent une bonne santé et une plus longue longévité sont: [une bonne] hygiène physique (propreté corporelle, activité physique), [une meilleure] alimentation (équilibrée et variée), [une] amélioration de l'habitat (isolation, chauffage, eau potable, collecte des déchets, canalisation et assainissement des eaux usées), [une] amélioration des conditions de travail (ouvriers mieux protégés contre des produits toxiques, amélioration de la pénibilité du travail pour les cheminots*...)". On voit donc qu'aucune mention n'est faite des apports des modèles animaux dans la compréhension et la lutte des grandes pathologies humaines, ni dans la connaissance qu'a l'homme du monde qui l'entoure, ce qui inclut aussi la santé animale. Rappelons entre autre que grâce à l'expérimentation animale, l'espérance de vie de l'homme a considérablement augmenté (voir Figure 1.8). L'espérance de vie des animaux eux-mêmes a également fortement augmentée par la connaissance des grandes pathologies animales (rage par exemple). Cependant, il est d'utilité publique que ce genre de mouvements trouve sa place au sein de la cité et des débats de société (à l'exclusion des actions extrémistes et radicales bien entendu) puisque les grandes avancées en terme d'éthique animale l'ont souvent été en réponse à la pression populaire. Or, cette pression trouve souvent sa source dans les prises de conscience collectives provenant de ces nombreux groupes de pression. D'ailleurs, suite à ces mouvements populaires, le 15 octobre 1978 a été proclamée la déclaration universelle des droits de l'animal (voir Annexe 1) à laquelle de nombreuses associations de défense des droits des animaux ont apposé leur signature. Ce genre d'initiatives résultant en des actes concrets permet ainsi une prise de conscience générale des droits qu'a l'animal et du respect et des devoirs qu'a l'homme à

Figure 1.8
Affiche de soutien à l'expérimentation animale

son égard. Elles obligent même les plus réfractaires de ceux qui travaillent sur du vivant à se conformer aux exigences de l'éthique animal.

Avant d'en finir avec cette digression du sujet initiale, je me permets de suggérer la lecture de la Charte pour une Ethique de l'Expérimentation Animale (voir Annexe 2), notamment les articles 1 et 2 sur la nécessité de recourir aux modèles animaux et sur le devoir moral de l'expérimentateur de prendre en compte et prévenir la douleur animale autant que possible. Bien sur, le problème de l'utilisation de l'animal en sciences est un débat complexe qui ne saurait nullement trouver une quelconque solution ou début de réponse dans ces quelques lignes, mais cette question se devait, je pense, d'être posée au cours d'une thèse ayant été faite par le sacrifice d'animaux. Une façon de leur rendre hommage, même de manière dérisoire. Pour conclure, je finirai simplement avec ceci: pour comprendre l'homme, l'homme a besoin de l'animal. Il est de son devoir d'homme de se rappeler à chaque instant l'immense pouvoir qu'il s'est octroyé sur l'animal et de l'utiliser avec respect et humilité.

Chapitre 2

Les émotions, partenaires privilégiées de la mémoire

Le tableau de Füssli (1741-1825) sur la page précédente, *La folie de Kate* (1806), vous est-il indifférent? Vous met-il mal à l'aise? Evoque-t-il un sentiment désagréable? Vous fait-il peur? Si oui, vous venez d'être victime de votre système émotionnel. Vous venez de vivre une émotion de peur. Mais au fait, qu'est-ce que la peur?

Les travaux de cette thèse s'insérant dans la thématique plus générale des apprentissages émotionnels, voyons ensemble la définition de ce deuxième terme, en d'autres termes, qu'est ce qu'une émotion et comment interagit-elle avec la mémoire ?

2.1. Les émotions ? Une définition… difficilement définissable

Repérer une émotion est une chose facile, que l'on ressent instantanément et automatiquement et qui arrive à tout un chacun un nombre incalculable de fois: avoir eu peur de se faire mal quand on a glissé dans l'escalier, pester d'énervement contre la contravention que nous a mis la contractuelle, la troisième ce mois ci ! ou être transporté de joie à l'annonce d'un heureux évènement très prochain. Ces ressentis intérieurs guident ou tout du moins influencent grandement nos réactions dans certaines situations: sous la colère, nos paroles dépassent nos pensées, dans un état amoureux, on écrit ses plus beaux vers ou réalise ses plus beaux croquis. Les réponses corporelles sont toujours les mêmes, notre pouls s'accélère, nous respirons plus vite, nous pouvons devenir rouge ou au contraire pâlir en une demi seconde, nos mains et notre front deviennent moites, bref, cela se ressent et cela se voit. "*La plupart, si ce n'est toutes les émotions, font intervenir une réponse corporelle*" (LeDoux, 1996, p. 43). Les émotions influencent le vécu personnel de chacun ou encore l'art, que ce soit la poésie, la peinture, le cinéma… et l'art est un reflet des mentalités de son époque, c'est-à-dire qu'il peut relayer les colères et autres attentes d'un peuple. Est-ce que les émotions peuvent changer le monde ? Pourquoi pas. Mais là n'est pas le propos de ce sujet, que les sociologues se chargent de cette question ! Revenons-en à des considérations neuroscientifiques et tentons ici de définir les émotions.

2.1.1. Les émotions en psychologie

Donner une définition est un problème ardu car malgré toutes les recherches effectuées en philosophie, psychologie ou sciences expérimentales, "*il n'existe pas encore de définition consensuelle de leur nature ni de théorie dominante pour expliquer leurs fonctions*" (Tiberghien et collaborateurs, 2002). D'après Joseph LeDoux, "*[...] l'une des choses les plus pertinentes qui ait été dite au sujet de l'émotion pourrait être que tout le monde sait ce dont il s'agit jusqu'au moment où on demande de la définir*" (LeDoux, 1996, p. 26). Par exemple, Kleinginna et Kleinginna (1981) ont recensé une liste de quatre-vingt douze définitions, mettant l'accent tantôt sur la dimension subjective, tantôt sur les stimuli déclencheurs, tantôt sur leur avantage adaptatif… Et c'était il y a vingt-cinq ans ! Cela explique certainement pourquoi les différents auteurs ne définissent que rarement voire jamais ce qu'ils entendent par *émotions*. Par ailleurs, les émotions sont souvent décrites comme appartenant à un ensemble de phénomènes affectifs comprenant entre autre, les sentiments, les humeurs, les pulsions, la motivation… Toutefois, à l'aide de différents champs d'investigation, essayons de tirer une vision plus claire de ce mot, à défaut de trouver une définition précise.

On ne sera pas étonné de constater que selon la discipline à laquelle se raccrochent les auteurs, les définitions et concepts varient. Voyons la définition proposée dans le Dictionnaire des Sciences Cognitives (Tiberghien et collaborateurs, 2002): "*Concept général employé pour décrire des états cognitifs particuliers incluant, entre autres, la peur, la colère, la joie, la tristesse, le dégoût, et la surprise*". Autrement dit, le concept est pour le moins flou. Selon cette définition, ces états cognitifs particuliers vont modifier les états internes d'un individu et permettre la mise en place de réponses neurovégétatives et comportementales adaptées aux situations qui les engendrent. Une expérience émotionnelle comporterait au moins trois phénomènes: physiologique, somatique et affectif (Tiberghien et collaborateurs, 2002).

D'un point de vue psychologique, les émotions peuvent être caractérisées comme des "*réactions violentes, explosives, de l'organisme face à des situations où il ne peut donner des réponses adaptées ou modulées*" (Lieury, 1990). Les émotions trouveraient leurs origines en des systèmes de commande (hypothalamus, amygdale, bulbes olfactifs…) qui déclencheraient pour une activité modérée, les motivations, et pour une activité intense les émotions. Pour le psychiatre Jacques Cosnier (1994), en revanche, les émotions sont des "*états mentaux*" qui se manifestent à trois niveaux: physiologique, comportemental et psychique. On retrouve donc, en d'autres termes, les trois niveaux de manifestation de la définition du Dictionnaire des

Sciences Cognitives. Mais selon lui, les états mentaux se séparent en deux catégories: la première regroupe les états mentaux de durée limitée qui sont les émotions de base proprement dites et leurs dérivés, par exemple la joie provoquée par une bonne nouvelle. Le panel des émotions de base serait le suivant: l'amour, la joie, la surprise, la colère, la tristesse et la peur. La deuxième catégorie regroupe les états mentaux plus durables, liés à des relations plus qu'à des évènements qu'il nomme "*sentiments*", par exemple la sympathie que l'on porte à un ami ou l'amour que l'on a pour sa compagne. Selon lui, les émotions sont dues à une modification du psychisme par un stimulus qui se traduit par des modifications physiologiques et comportementales. Néanmoins, Cosnier considère que "*l'amour, l'attirance érotique, la haine, l'agressivité, l'anxiété jouent dans la vie quotidienne des rôles aussi fondamentaux que les émotions dites de base*" et sont donc des notions qui doivent être incluses dans le registre émotionnel. En effet, en plus des problèmes définitionnels, il n'y a pas de consensus non plus sur une liste d'émotions de base. Ainsi, Panksepp (1982) ne considère que quatre grands systèmes d'émotions de base (plaisir, peur, colère détresse), héritées de l'animalité de l'homme et qui répondent à des stimuli déclencheurs (voir Figure 2.1).

Emotions	***Stimulus***	***Réactions***
Plaisir	Stimulus appétitif	Satisfaction
Colère	Frustration Agression	Combat
Peur	Douleur Danger de destruction	Fuite Immobilité
Détresse	Perte du contact social	Plaintes Pleurs

Figure 2.1 Les quatre émotions de base de Panksepp (1982)

Et là encore, selon les auteurs, le nombre et la nature des émotions de base ne sont pas les mêmes. Ainsi, Cosnier en considère six (mais ajoute à cela une centaine de sous états émotionnels comme la compassion, l'hostilité, les remords, la crainte…) qui sont au même nombre que dans la définition du Dictionnaire des Sciences Cognitives (Tiberghien et collaborateurs, 2002)… mais ne sont pas les mêmes, l'amour étant remplacé par… le dégoût. Et cette liste n'est pas exhaustive, il existe probablement autant de définitions qu'il y a de psychologues (par exemple, voir Figure 2.2).

	Joie	Surprise	Peur	Colère	Tristesse	Dégoût	Mépris	Détresse	Intérêt	Culpabilité	Honte	Amour
Woodworth et Schlosberg (1964)	+	+	+	+	+		+	+				
Ekman et Friensen (1975)	+	+	+	+	+		+	+				
Izard	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+
Schwartz et Schaver (1987)	+	+	+	+	+							

Figure 2.2 Liste des émotions de base selon différents auteurs (d'après Cosnier, 1994)

On voit donc que d'un point de vue psychologique, il n'est pas possible de définir clairement et définitivement la nature et le nombre des émotions.

2.1.2. Les émotions en sciences expérimentales

En neurosciences, il n'existe pas non plus de consensus sur ce qu'est une émotion. Par exemple, pour Antonio Damasio "*le terme d'émotion devrait être correctement utilisé pour désigner un ensemble de réponses déclenchées par certaines parties du cerveau sur le corps, et par certaines parties du cerveau sur d'autres parties du cerveau, utilisant à la fois des voies neuronales et humorales*" (Damasio 2003, p. 84). Il propose de différencier les émotions primaires et secondaires. Les émotions primaires seraient des réactions émotionnelles *préprogrammées* à la naissance, c'est-à-dire que certains stimuli, sélectionnés par l'évolution, entraîneraient des réponses émotionnelles sans apprentissage préalable. Il est, selon lui, possible que "*nous soyons programmés pour répondre par une réaction émotionnelle à la perception de certains traits, caractérisant des stimuli survenant dans le monde extérieur ou dans notre corps, isolément ou de façon combinée*" (Damasio, 1994, p. 174). En clair, la vue d'un serpent ou le son d'un grognement entraîne automatiquement une émotion de peur, mettant à disposition tous les substrats énergétiques disponibles pour y faire face, c'est-à-dire affronter la cause de cette peur ou, le cas échéant, la fuir. Selon l'auteur, dans ce cas, l'amygdale est prépondérante. Les émotions primaires sont au nombre de cinq et sont la joie, la tristesse, la colère, la peur et le dégoût. Les émotions secondaires, quant à elles, vont résulter de l'histoire propre de chacun et, en ce sens, rejoignent la notion de sentiments de

Cosnier. Par exemple, la perte d'un être que vous connaissiez et appréciiez vous rendra triste. Dans ce cas, cette émotion résulte des représentations mentales que vous avez allez vous faire des conséquences que sa mort implique (vous ne le reverrez jamais, vous allez devoir affronter la tristesse de ses proches et la compassion des vôtres pour vous…). Ici, les capacités cognitives de haut niveau sont impliquées et nécessitent plutôt l'intégrité du CPF. Cette théorie est reprise plus en détails dans le paragraphe 2.2.

Pour Joseph LeDoux, les émotions sont "*des spécialisations comportementales et physiologiques, des réponses corporelles sous contrôle cérébral qui ont permis aux organismes ancestraux de survivre et de se reproduire dans un environnement hostile*" (LeDoux, 1996, p. 44). Selon lui, elles ne sont que quatre de base, la peur, la joie, le dégoût et la colère, les autres dénominations ne sont que des variations de langage. Les différentes émotions emprunteraient des systèmes cérébraux distincts puisque ayant évolué pour différentes raisons. Comme Damasio, il distingue deux types de stimuli, les "*déclencheurs naturels*" qui sont des "*stimuli de déclenchement pertinents pour la fonction du réseau traitant une émotion*", par exemple un prédateur, et les "*déclencheurs appris*" qui sont des "*nouveaux stimuli qui tendent à être associés aux déclencheurs naturels*", par exemple l'endroit où a été vu le prédateur. Les émotions sont inconscientes en grande partie, seules les sentiments de ces émotions sont conscients.

Pour Jean-Didier Vincent (2003, p. 25), il existe également deux niveaux psychologiques: l'émoi qui "*traduit la présence du monde dans le corps du sujet. Celui-ci fait constamment l'épreuve du monde; son émoi est continu, fluctuant au gré de son sentir*". L'émoi est interne à la personne et n'appartient qu'à lui. Le deuxième niveau est "*les émois (pluriel) ou émotions par lesquels le sujet se manifestent au monde: ce qu'il fait paraître de ses réactions intérieurs à un objet ou à une situation qui l'affecte. Ces émotions s'expriment à l'interface entre le corps et le monde: la peau, les actions et attitudes, la tête de l'animal et le visage de l'homme*". Ainsi, selon lui, "*le propre des émotions, c'est de proclamer à la surface du corps les passions qui agitent ce dernier*" (p. 35).

On peut donc voir que pour Vincent, les émotions émergent donc d'un état conscient et ne sont que la manifestation d'états internes alors que pour Damasio et LeDoux, elles sont ces états internes. Cependant, Damasio introduit le terme anglais de feeling, communément appelé sentiment en français. Selon lui, ce terme "*devrait être employé pour décrire les états mentaux complexes qui résultent des états émotionnels*". En d'autres mots, le feeling est un état conscient. Pour LeDoux, de la même façon, "*les réponses émotionnelles sont, dans une large mesure, inconscientes. Freud avait parfaitement raison quand il décrivait la conscience*

comme le sommet de l'iceberg mental". De fait, selon lui, seuls les animaux doués de conscience pourraient éprouver les sentiments résultant de leurs émotions, c'est-à-dire "*que nous ne devrions pas admettre trop vite que lorsqu'un animal est en danger, il se sent effrayé*". Il se pourrait donc que l'apparente incompatibilité théorique qui existe entre les définitions de Vincent d'un côté et celle de LeDoux et Damasio de l'autre pourrait n'être qu'un problème de terminologie, un même mot pour définir deux niveaux émotionnels différents.

A travers cet aperçu sommaire de quelques définitions, on voit que définir clairement ce qu'est une émotion n'est pas simple. Essayons tout de même de donner une définition plus personnelle: une émotion serait une modification des états internes ou cognitifs en réaction à un stimulus (interne ou externe), qui entraîne des réponses psychiques, neurovégétatives et comportementales adaptées pour faire face au stimulus qui la déclenche.

Parcourons maintenant, si vous le voulez bien, l'histoire des concepts des émotions au cours de l'histoire des sciences.

2.2. Les différentes étapes des connaissances sur les émotions

On connaît depuis toujours le rôle important des émotions sur le comportement: de l'embrasement général du corps lors d'un coup de foudre à la peur bleue éprouvée lorsque quelqu'un surgit inopinément de nulle part, tout le monde a déjà éprouvé les modifications végétatives qui s'emparent automatiquement de nous, comme l'augmentation du rythme cardiaque, les mains moites ou les frissons dans le dos. Et ces réactions involontaires sont le reflet de ce qui se passe dans notre cerveau.

2.2.1. Descartes, émotions, raison et passions de l'âme

Quelques années après *Le discours de la méthode*, Descartes peaufine sa théorie, qui distingue par un dualisme absolu le corps de l'âme, dans *Le traité des passions* (1649). Selon

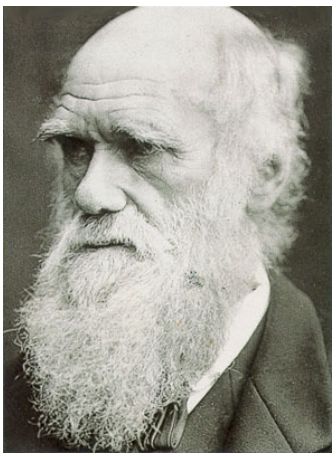
lui, l'homme est fait d'un corps où se meuvent les *esprits animaux* à travers les nerfs, qu'il assimile à des sortes de tuyaux imperceptibles. Ainsi, ces esprits animaux permettraient de faire fonctionner nos muscles et notre corps, et de faire face, le cas échéant, aux situations que l'on rencontre. Par exemple, devant un danger, ces esprits se rendraient *automatiquement* dans les nerfs qui servent à actionner les muscles qui permettent de prendre la fuite. Ceci expliquerait les réflexes de l'homme et tous les mouvements chez les animaux. En ce sens, le corps de l'homme et de l'animal dans son ensemble n'est qu'une machine.

Cependant, au contraire de l'animal, l'homme est doué d'une âme et, par conséquent, d'une raison. Lors d'une perception *extérieure*, le mouvement des esprits animaux qui en résulte serait fidèlement transmis à l'âme via la glande pinéale, ce qui lui donnerait la sensation de la situation. Par sa volonté propre, l'âme est alors capable de diriger à sa guise les esprits animaux afin de contrer les mouvements provoqués par réflexe et automatisme. Cependant, il existe d'autres perceptions, *intérieures* celles-ci, *les passions de l'âme*. Ces émotions de l'âme seraient causées et entretenues par les esprits animaux, afin de lui faire accepter les actions automatiques engendrées par eux. Par exemple, lors de la peur et d'un grand danger, le corps va fuir automatiquement et, parallèlement, certains esprits animaux, en arrivant au cerveau, vont influencer l'âme, ce qui va entretenir et fortifier la peur. De fait, l'âme subit les passions, qui ont une cause physiologique et proviennent donc de la mécanique du corps-machine. Pour Descartes, une passion est négative.

Cependant, l'âme a une volonté propre qui lui permet de combattre les passions qu'elle juge mauvaise. Cette volonté agit sur la raison. Ainsi, si la peur lui parait injustifiée, l'âme va faire naître une représentation des situations qui sont conjointes à cette peur, c'est-à-dire la passion qu'elle subit: dans le cas de la fuite, la raison va faire naître l'idée qu'il est souvent plus sûr de faire face à un danger que de le fuir, qu'une plus grande gloire accompagne toujours un héros qu'un lâche… ce qui poussera la personne à stopper sa fuite et affronter sa peur.

On voit donc dans la théorie de Descartes que, par sa volonté propre, l'âme est capable de combattre et repousser les passions mauvaises et que ces passions, par nature, vont à l'encontre de la raison. Ainsi, selon Descartes, l'homme qui a une âme, se doit, à l'inverse des animaux, d'être raisonnable. Les émotions sont donc mauvaises et tendent à rapprocher l'homme de l'animal.

2.2.2. Charles Darwin: de l'origine des émotions



Portrait 8
Charles Darwin
(1809-1882)

La conception actuelle des circuits des émotions relève d'une longue lignée de recherches et de questions théoriques. En effet, dès la deuxième moitié du 19ème siècle, au temps des pionniers de la biologie moderne, de nombreux chercheurs se sont intéressés aux mécanismes cérébraux impliqués dans les émotions. L'une des premières études complète sur les émotions est celle de Charles Darwin (1809-1882, voir Portrait 8) *L'expression des émotions chez l'homme et les animaux* (Darwin, 1872/1890). Il remarque que l'homme et les animaux partagent de nombreuses émotions en commun, en témoigne l'attitude des chats terrorisés par la présence d'un chien ou un chien qui grogne (voir Figure 2.3). En droite ligne de sa théorie de l'évolution, il en conclut sans aucun doute que les émotions humaines sont communes à celles des vertébrés supérieurs. Ainsi, "*certaines expressions de l'espèce humaine, les cheveux qui se hérissent sous l'influence d'une terreur extrême, les dents qui se découvrent dans l'emportement de la rage, sont presque inexplicables si l'on n'admet pas que l'homme a vécu autrefois dans une condition très inférieure et voisine de la bestialité. […] Celui qui admet d'une manière générale le développement graduel de l'organisation des habitudes chez tous les animaux verra toute la question de l'expression s'éclairer d'un jour nouveau et intéressant*". Selon lui, les émotions sont un précieux facteur adaptatif puisqu'elles permettent aux animaux phylogénétiquement récents d'adapter leurs comportements aux situations nouvelles, ce qui leur confère une adaptabilité plus grande et les affranchit des réactions peu flexibles que sont les réflexes. Darwin répertorie une vaste gamme d'attitudes ou de sentiments, dont certains typiquement humains, que sont la souffrance et les pleurs, la réflexion, la haine et la colère, le mépris et le dégoût, la surprise et la crainte et le phénomène de la rougeur. Selon lui, "*les actions expressives présentées par l'homme et les mammifères inférieurs sont innées, c'est-à-dire qu'elles n'ont pas été apprises par chaque individu*". Pour étayer ses dires, il fait subir de nombreux tests de reconnaissances d'expressions de visage à l'aide de photos d'acteurs mimant certaines expressions, se sert de ses carnets de notes où sont répertoriées ses observations de ses propres enfants et de l'expression d'émotions non apprises. De plus, il fera passer des questionnaires aux missionnaires et fonctionnaires coloniaux pour vérifier si les

expressions faciales sont les mêmes chez les populations indigènes n'ayant pas ou peu eu de contacts avec les européens.

Figure 2.3 Expression comportementale des émotions chez les animaux d'après Darwin

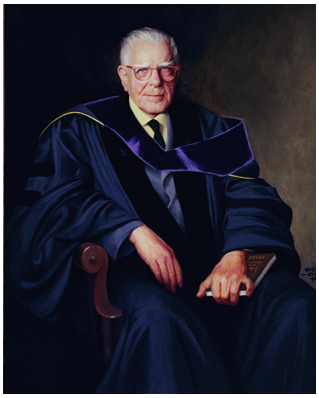
Par son approche multiple de la question, Darwin livre l'une des études les plus complètes de l'époque, basée sur ses observations minutieuses et qui s'insère parfaitement dans la théorie de l'évolution qu'il défend.

2.2.3. Les théories périphéraliste de James-Lange et centraliste de Cannon-Bard

En 1884, William James (1842-1910, voir Portrait 4, p.21) publie un article dans la revue *Mind*, "*What is an emotion ?*". Il propose une théorie des émotions dans laquelle il prévoit que les émotions ne sont rien d'autre que la perception consciente de changements corporels induits par un stimulus (James, 1884). Ainsi, dans l'exemple classique de l'ours, il affirme que lorsque l'on voit un ours, nous déclenchons immédiatement des réactions végétatives au travers des viscères et nous mettons instantanément à fuir. Ce serait la prise en compte consciente par le néocortex de ces changements corporels qui serait l'émotion de peur. Cette théorie postule que l'on est incapable d'imaginer une vraie émotion puisque les

organes internes nécessaires à sa génèse ne peuvent pas être activés sur commande. En résumé, s'il n'y a pas de viscères, il n'y pas d'émotions: on ne pleure pas parce que l'on est triste mais on est triste parce que l'on pleure. Par exemple, si nous épluchons un oignon qui nous fait pleurer, alors nous sommes tristes. A la même époque, Carl Georg Lange propose une théorie similaire (Lange et James, 1885/1967), ce qui lui vaut d'être associé à James dans la *théorie James-Lange* des émotions. Cette théorie est dite périphéraliste car la source des émotions provient des récepteurs corporels périphériques.

Portrait 9
Walter Cannon
(1871-1945)



Portrait 10
Phillip Bard
(1898-1977)

Cette théorie a été la théorie dominante des émotions jusque dans les années vingt et les travaux de Cannon et de Bard. En 1927, Walter Bradford Cannon (1871-1945, voir Portrait 9), qui travaille sur le système nerveux sympathique (système noradrénergique), montre que ce dernier mobilise des ressources énergétiques en cas d'alerte, contrairement aux systèmes nerveux parasympathique et entérique qui favorisent l'augmentation des réserves métaboliques (Cannon, 1927). Cette réponse au stress est à l'origine de la théorie du *Bats-toi ou fuis* (*Fight or Flight*): en cas de stress intense, l'animal se prépare à combattre ou à fuir, avec toutes les ressources métabolique mises à disposition des organes nécessaires. Ces rôles antagonistes de stockage et d'utilisation des ressources énergétiques sont, selon lui, un reflet des états émotionnels internes de l'animal. Voici ses propres termes: "*Le désir de nourriture et de boisson, le plaisir qu'on a à les prendre, tous les plaisirs de la table s'annulent devant la colère ou une crise d'anxiété*" (Cannon, 1929). Cette théorie postule donc que l'émotion de peur est la cause des réponses corporelles et comportementales à la vue de l'ours et pas sa conséquence. D'un point de vue éthologique, l'antagonisme des comportements induits par les deux grands systèmes nerveux se révèle payant dans la survie d'un animal puisqu'il est plus important pour lui de fuir face à un prédateur en mobilisant ses ressources énergétiques que de continuer à en stocker en continuant de s'alimenter. En 1928, Phillip Bard (1898-1977, voir Portrait 10), montre les rôles différentiels de l'hypothalamus caudal et du cortex cérébral dans les émotions. En ôtant les deux hémisphères cérébraux de chats tout en laissant intact l'hypothalamus caudal, il remarqua que les animaux se comportaient comme sous l'emprise d'une rage violente, avec tous les signes

comportementaux (dos incurvé, griffes sorties, crachats…) et végétatifs (dilatation pupillaire, hausse de la fréquence cardiaque…) normaux du chat en proie à une violente colère. Ce comportement de rage dépourvue d'objectif fut appelé *rage factice* (*sham rage*). Bard émet alors l'hypothèse que le cortex cérébral est indispensable à l'expérience subjective de l'émotion mais pas à son expression, qui relèverait de l'hypothalamus. Cannon, en collaboration avec Phillip Bard, s'opposa vivement, à titre posthume, à James Lang et à sa théorie des émotions. S'appuyant sur le fait que les viscères ont une sensibilité réduite, que leur temps de réaction est trop long pour expliquer la quasi-instantanéité des émotions et que des patients chez qui les viscères sont absentes ou non reliées au système nerveux central éprouvent tout de même des émotions. De plus, des individus à qui on injecte de l'adrénaline manifestent tous les signes caractéristiques d'un état émotionnel sans ressentir aucune émotion. Les travaux de Cannon et Bard sont à l'origine de la *théorie de Cannon-Bard* qui stipule qu'un stimulus externe perçu entraîne des émotions via le cerveau, qui se traduisent ensuite au niveau végétatif et comportemental (voir Figure 2.4). Cette théorie est dite centraliste car la source des émotions est le système nerveux central.

De ces expériences est venue l'idée que les émotions naissent dans les structures cérébrales et sont manifestées au niveau moteur et végétatif via l'activation des neurones hypothalamiques.

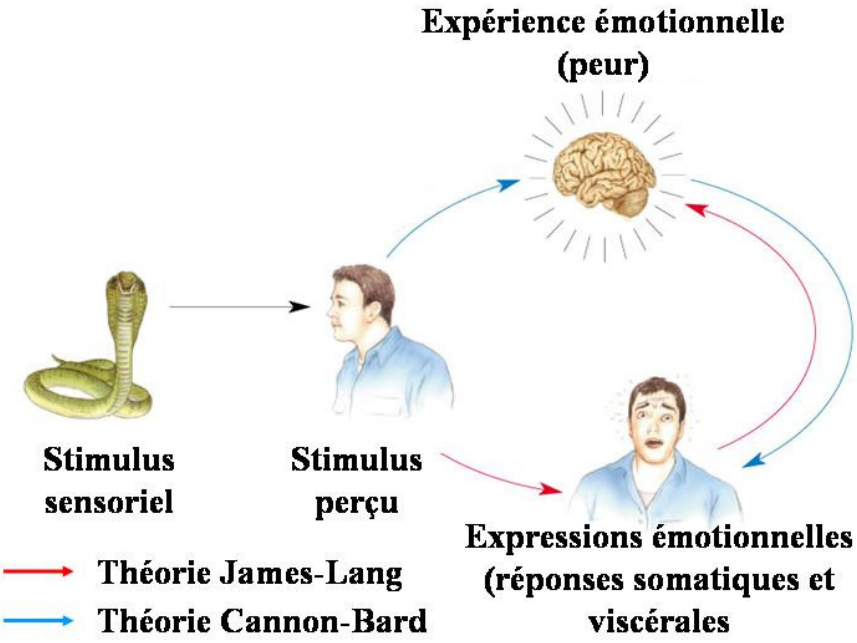


Figure 2.4 Schéma des émotions selon les théories de James-Lang et de Cannon-Bard

2.2.4. Le lobe limbique et le circuit de Papez

Portrait 11
James Papez
(1883-1958)

En 1937, James Papez (1883-1958, voir Portrait 11) propose l'une des théories les plus influentes sur le substrat des émotions: il avance qu'il existerait des circuits cérébraux dévolus spécifiquement à la génèse de l'expérience subjective des émotions et à leurs manifestations (Papez, 1937). Pour des raisons anatomiques, il va commencer à s'intéresser particulièrement au lobe limbique, partie du cortex cérébral qui forme une bordure autour du corps calleux, sur l'aspect médian des deux hémisphères. Le lobe limbique contient le cortex cingulaire au-dessus du corps calleux et l'hippocampe dans la partie médiane du lobe temporal. Papez sait par les travaux de Bard que l'hypothalamus gouverne l'expression des réactions émotionnelles et que les hautes fonctions cognitives peuvent influencer et être influencées par les émotions. Papez propose alors un circuit expliquant comment le cortex et l'hypothalamus sont connectés, *le circuit de Papez*. Contrairement à Cannon qui considère l'hypothalamus comme une structure homogène, Papez distingue une sous région faisant saillie, les corps mamillaires qui se projettent sur le cortex cingulaire, via le noyau antérieur du thalamus. Le cortex cingulaire se projetterait alors sur l'hippocampe et fermerait la boucle en étant connecté à l'hypothalamus via le fornix. Pour lui, les émotions peuvent être générées de deux façons par ce circuit: soit via les stimuli sensoriels qui rentrent par le thalamus et connectent directement l'hypothalamus, cette voie est appelée *la voie du sentiment*, soit par des pensées en provenance des cortex sensoriels qui intègrent le circuit via le cortex cingulaire. Cette voie est appelée *la voie de la pensée* (voir Figure 2.5). Les expériences émotionnelles conscientes résulteraient de l'intégration par le cortex cingulaire antérieur des signaux en provenance des cortex sensoriels et de l'hypothalamus. Selon lui, les personnes souffrant de troubles émotionnels souffriraient de l'interruption de ce circuit.

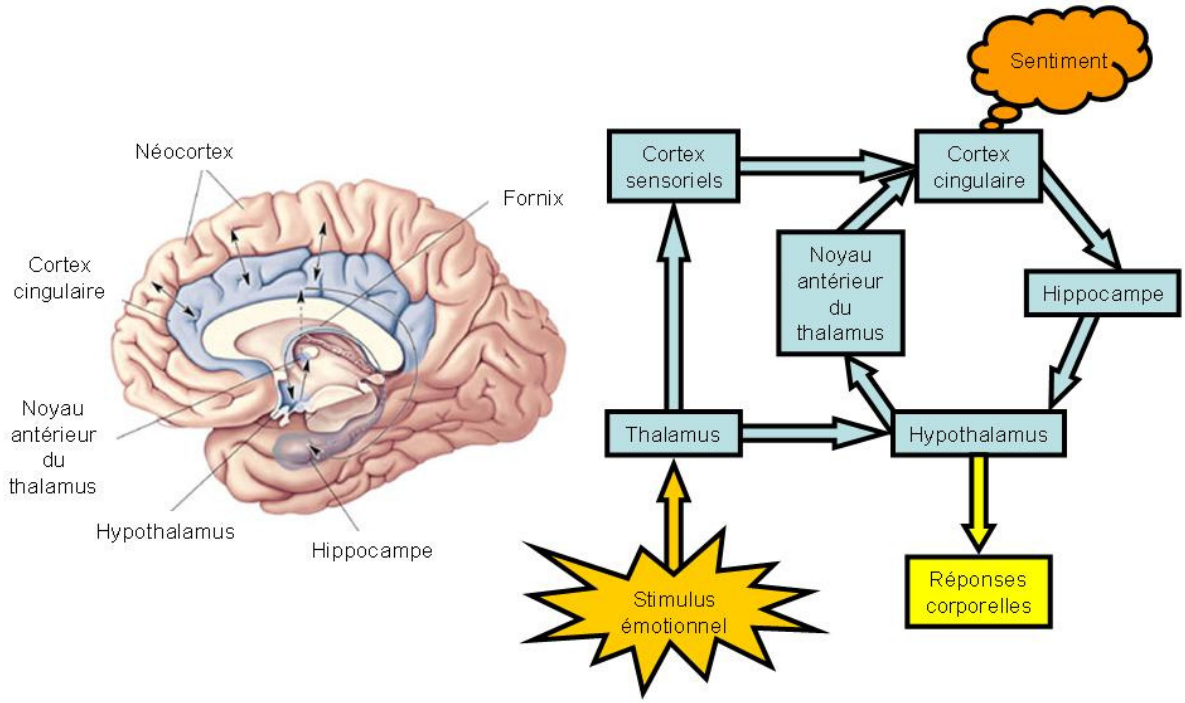


Figure 2.5 Le circuit de Papez (1937)

Si par la suite, l'existence de ce circuit s'est avérée fausse, le circuit de Papez fut une tentative judicieuse de décrire les voies anatomiques des émotions. Aujourd'hui, très peu de ces voies ont été reconnues comme étant impliquées dans les émotions. Mais l'importance historique du circuit de Papez est indéniable puisqu'il est à l'origine de la théorie du système limbique.

2.2.5. Mac Lean, le système limbique et le cerveau émotionnel

Ralenties à cause de la 2ème guerre mondiale, les recherches sur les émotions vont être relancées en 1949 par Paul Donald MacLean (voir Portrait 12), année où il reprend le circuit de Papez et le complexifie (MacLean, 1949). Selon lui, le rhinencéphale, qui est constitué du lobe limbique et des deux bulbes olfactifs et qui joue un rôle central dans l'olfaction, jouerait également un rôle majeur dans les émotions. Il est fortement connecté à l'hypothalamus et est relativement important chez l'homme alors que l'olfaction y est un sens atrophié. Ayant remarqué qu'une stimulation du rhinencéphale produit des réactions proches

des émotions, il en fait son centre des émotions, et accorde une grande importance à l'hippocampe.

Portrait 12
Paul MacLean

En 1952, il introduit le terme de *système limbique* qui désigne le circuit de Papez ainsi que l'amygdale, le septum et le CPF. L'amygdale aurait un rôle particulièrement important puisqu'elle est fortement connectée à l'hypothalamus et au cortex cérébral. Selon lui, toutes ces structures formeraient un système phylogénétiquement ancien qui assure la survie de l'individu par des réponses viscérales et affectives adaptées aux situations.

En 1970, il introduit sa théorie du *cerveau triune*. Selon lui, au cours de l'évolution, le cerveau serait passé par trois stades distincts: le cerveau reptilien, le cerveau paléomammalien ou limbique et le cerveau néomammalien ou néocortex. Le cerveau reptilien serait le plus ancien et assurerait les fonctions vitales de l'organisme. On le retrouve chez tous les vertébrés. Il servirait à contrôler la fréquence cardiaque, la respiration, la température corporelle, l'équilibre, etc. Il comprend le tronc cérébral et le cervelet, ce qui forme l'essentiel du cerveau d'un reptile. Le cerveau limbique serait apparu avec les premiers mammifères. Il serait capable de mémoriser les comportements agréables ou désagréables, et serait donc responsables des émotions chez l'humain. Il comprend principalement l'hippocampe, l'amygdale et l'hypothalamus. Enfin, le cerveau néomammalien prend de l'importance chez les primates et notamment l'humain. Il serait le siège des fonctions cognitives de haut niveau, comme la réflexion, le langage, la pensée abstraite, l'imagination… Selon lui, le cerveau limbique serait le cerveau des émotions, c'est-à-dire le centre localisé des émotions.

Cependant, la théorie du cerveau limbique comme siège des émotions, aussi séduisante soit-elle puisqu'elle prend en compte un aspect évolutif des émotions, est aujourd'hui majoritairement rejetée. On sait que certaines structures du cerveau limbique sont impliquées dans la mémoire émotionnelle, l'amygdale notamment, mais d'autres ne semblent pas l'être, l'hippocampe serait, par exemple, plutôt impliqué dans les fonctions cognitives. On sait aussi que de nombreuses structures qui n'en font pas partie sont également impliquées (les cortex sensoriels, le tronc cérébral dans la régulation des fonctions végétatives…). Il semblerait donc que les émotions n'impliquent pas un seul système. En effet, on sait que les émotions sont impliquées dans notre survie. Mais comme les fonctions impliquées dans notre survie sont nombreuses et variées (fuir face à un danger, trouver de la nourriture, se

reproduire…) et utilisent chacune des circuits différents qui ont évolué pour différentes raisons, la recherche du *centre des émotions* localisé précisément semble être un concept caduc.

2.2.6. Downer, l'amygdale et le syndrome de Klüver et Bucy

En 1939, Heinrich Klüver et Paul Bucy effectuent des expériences de lésion de grandes parties des lobes temporaux médians sur des macaques rhésus, c'est-à-dire qu'ils interviennent sur le circuit de Papez. Les conséquences sur les animaux sont nombreuses. Ainsi, les singes souffrent d'agnosie visuelle, c'est-à-dire qu'ils ne reconnaissent plus les objets mais ne sont pas aveugles, présentent des comportements d'hyperactivité et d'hypersexualité et montrent surtout des altérations émotionnelles: les singes les plus violents deviennent dociles, ne montrent plus de signes agressifs aux expérimentateurs et ne sont plus apeurés lorsqu'on leur présente un serpent. Ces comportements, qui reproduisent ceux de patients ayant une lésion bilatérale des lobes temporaux, sont attribués par les auteurs à l'interruption du circuit de Papez. L'ensemble de ces symptômes a pris le nom de *syndrome de Klüver et Bucy*.

En 1961, le rôle de l'amygdale dans les comportements agressifs est démontré par J.L. Downer à l'aide de l'expérience suivante: il lèse unilatéralement une amygdale, sectionne le chiasma optique ainsi que les commissures reliant les deux hémisphères. Il remarque qu'en bandant l'œil controlatéral à la lésion de l'amygdale, c'est-à-dire quand les singes voient le monde avec l'œil ipsilatéral à la lésion, il ont tous les symptômes du syndrome de Klüver et Bucy, c'est-à-dire une hypoémotivité et une docilité inhabituelle. En revanche, quand l'œil ipsilatéral est bandé, les animaux retrouvent alors un comportement craintif et agressif. L'auteur conclut que, privé de l'amygdale, un singe est incapable d'interpréter normalement un stimulus visuel et d'avoir le comportement adéquat face à une situation qui entraîne normalement des réactions émotionnelles. Cependant, si l'animal est touché, il réagit alors de façon normale, c'est-à-dire de façon extrêmement agressive, signifiant que les messages somesthésiques des deux côtés du corps peuvent atteindre l'amygdale restante. La conclusion de cette étude est que l'amygdale est une interface nécessaire entre un message sensoriel et les processus qui lui donnent sa signification émotionnelle.

Par la suite, pendant tout le milieu du 20ème siècle, l'avènement des sciences cognitives dans l'étude des processus cognitifs de haut niveau (réflexion consciente, prise de décision, raisonnement logique…) a tenu à l'écart le rôle des émotions, prétendument un obstacle aux pensées logiques et antinomiques à la raison. Voyons ensemble cette période creuse de l'étude des émotions.

2.2.7. Les émotions en disgrâce

Jusqu'au début des années 1980, l'étude des émotions tomba en désuétude. Plusieurs raisons à cela: tout d'abord, la popularité du circuit de Papez qui expliquait très bien les émotions. De fait, la majorité des mystères expliquant leur génèse semblait élucidée. La deuxième raison est que les courants de pensée dominants excluaient les émotions de leurs champs de recherche. Tout d'abord, le courant comportementaliste (behavioriste), majoritaire jusqu'aux années 1960, postulait que tous les comportements rentraient dans un schéma stimulus-réponse. Ainsi, les émotions étaient considérées comme les autres processus mentaux, c'est-à-dire un moyen d'émettre une réponse adaptée à une situation (Skinner, 1938; Watson, 1929; Watson et Rayner, 1920). Dans ce courant, les séquences entre le stimulus et la réponse n'était pas digne d'intérêt, seule la réponse l'était. Etudier les émotions n'était donc tout simplement pas nécessaire. Par la suite succéda le courant cognitiviste qui excluait également le champ affectif de ses investigations. Les premiers à considérer que les émotions ne sont qu'un aspect de la cognition, furent deux psychosociologues, Stanley Schachter et Jerome Singer (Schachter et Singer, 1962). Ils proposèrent de réconcilier les théories de James-Lange et Cannon-Bard en suggérant que la prise en compte des changements corporels par le cerveau lors d'une situation de peur soit nécessaire à la génèse d'une expérience émotionnelle. Cependant, des situations émotionnelles différentes engendrent des mécanismes corporels communs (par exemple, cœur qui bat et mains moites lorsque nous avons peur… et quand nous sommes intimidés). Ainsi, la rétroaction corporelle est trop peu spécifique pour expliquer le sentiment de peur. Ces auteurs ont donc proposé que ce soit la prise en compte des changements corporels *et* du contexte dans lequel cela se passe qui va aboutir à une expérience émotionnelle. Dans ce point de vue, c'est donc un *traitement cognitif* de la situation par le cerveau qui est à l'origine de l'émotion. Ainsi, les émotions n'auraient pas

d'existence propre mais ne seraient qu'un résultat de traitements cognitifs. Et les choses en sont restées là ou presque pendant une vingtaine d'années. Jusqu'à un nouvel éveil de l'intérêt porté à cette discipline.

Ainsi, depuis une vingtaine années, le renouveau des études du substrat neuronal des émotions a été principalement réinitié par les travaux de Antonio Damasio chez l'homme et de Joseph LeDoux chez le rat.

Où en sommes-nous aujourd'hui ?

2.2.8. Emotions et raison: la théorie des marqueurs somatiques de Damasio

Portrait 13
Antonio Damasio

Par l'étude de patients humains avec des lésions cérébrales, Antonio Damasio (voir Portrait 13) a montré l'importance des émotions dans les processus cognitifs de haut niveau: sa théorie place les émotions au cœur des processus de décision, c'est-à-dire qu'elle lie émotions et raison (pour revue, voir Bechara, Damasio et Damasio, 2003; Damasio, 2003a). Selon les auteurs, la raison et la logique ne suffiraient pas à prendre une décision car nos choix sont grandement influencés par nos émotions. Nos émotions pourraient émerger par deux voies possibles (Damasio, 2003a): la première par ce qu'il appelle les *inducteurs primaires* (*primary inducers*) présents dans l'environnement immédiat et qui vont entraîner automatiquement et obligatoirement des réactions somatiques. Ces inducteurs déclenchent ce que Damasio appelle les *émotions primaires*, c'est-à-dire des émotions préprogrammées à la naissance et qui permettent de répondre de façon innée à certaines caractéristiques physiques (certains sons comme un grognement, certains mouvements comme une reptation…) mais également certains stimuli prédictifs de l'apparition de stimuli dangereux. Cette première voie nécessite l'intégrité de l'amygdale. La deuxième voie possible émerge grâce à des *inducteurs secondaires* (*secondary inducers*) qui vont aussi induire immédiatement et obligatoirement ce que Damasio qualifie d'*émotions secondaires*. A la différence des émotions primaires, les secondaires ne sont pas innées mais dépendent de l'expérience de chacun et des liens qui ont été faits entre une situation et un état émotionnel. Ainsi, lors d'une expérience émotionnelle, les changements

corporels induits par les inducteurs primaires vont être relayés au cerveau et les représentations de ces changements vont être stockées, notamment dans le cortex frontal. La prise en compte des marqueurs somatiques, c'est-à-dire les modifications corporelles induites par une émotion primaire, est donc indispensable pour générer une mise en mémoire des représentations des conséquences somatiques d'un stimulus. Ces représentations auraient ainsi un rôle de marqueurs somatiques qui permettraient, lorsque nous percevons par la suite des stimuli identiques, d'accéder aux émotions qui découlent de ces stimuli et d'avoir des réactions appropriées (Damasio, 1994). L'intégrité du cortex frontal et de l'amygdale serait indispensable au déclenchement des états internes dus aux inducteurs secondaires. En effet, "*la nature a fait simplement en sorte que les émotions secondaires soient exprimées par le même canal déjà utilisé par l'expression des émotions primaires*" (Damasio, 1994, p. 183). Ainsi, des patients avec une lésion du cortex frontal présentent des troubles d'expression des émotions secondaires tandis que des patients avec une lésion de l'amygdale présentent des troubles d'expression des émotions primaires et secondaires et ont donc des réactions émotionnelles faibles.

Dans cette théorie, lorsque nous percevons un stimulus émotionnel, les deux voies peuvent être déclenchées en même temps. Le stimulus émotionnel sert d'inducteur primaire qui peut réévoquer le souvenir que l'on a eu d'un évènement proche ou identique, qui peut alors servir comme inducteur secondaire: les états somatiques d'un individu seraient donc dus aux deux types d'inducteurs simultanément. Cependant, le développement normal du système orbitofrontal reposerait dans un premier temps sur l'intégrité du système amygdalien puis, comme pour l'hippocampe qui perd peu à peu de son importance dans la mémoire déclarative, l'amygdale perdrait de son importance dans ce deuxième système. Ainsi, des patients avec une lésion de l'amygdale sont toujours capables d'exprimer les réactions somatiques liées au rappel d'un souvenir émotionnel ancien alors que pour un souvenir émotionnel récent, ils gardent intact le rappel conscient de ce souvenir mais sans engendrer les conséquences somatiques normalement observées.

Bechara et collaborateurs ont montré l'importance des émotions dans la prise de décision. Des patients avec une lésion du CPF (Bechara, Damasio, Tranel et Damasio, 1997; Bechara, Damasio, Damasio et Lee, 1999) ou de l'amygdale (Bechara, Damasio, Damasio et Lee, 1999) ont été soumis à une tâche de jeu d'argent (*Gambling Task*). Cette tâche où le sujet obtient des gains factices consiste à choisir une carte parmi quatre tas, A, B, C et D. Les tas A et B contiennent des cartes qui rapportent de l'argent tout de suite mais qui, à long terme, entraînent une perte d'argent. Les cartes des tas C et D, au contraire, font perdre de l'argent

mais se révèlent rentables à long terme c'est-à-dire que si les sujets ne prennent que des cartes de ces tas, ils gagnent de l'argent. Des sujets normaux vont commencer par prendre au début majoritairement des cartes des tas A et B. Puis, en parallèle et avant même qu'ils en aient conscience, leur réponse électrodermale (RED) va augmenter progressivement mais uniquement avant qu'ils prennent des cartes de ces deux tas. C'est la phase de RED anticipée, c'est-à-dire que les sujets n'ont pas encore conscience que leur stratégie n'est pas la bonne mais on peut déjà mesurer un changement des réponses somatiques. Par la suite, leur choix va s'orienter majoritairement vers les cartes des tas C et D, puis ils prendront conscience de l'avantage de tirer les cartes dans ces tas. A ce moment là, la RED n'augmente plus. Dans cette expérience, on voit que les émotions permettent une prise de décision adéquate et une adaptation de la stratégie de la part des sujets. Chez des sujets avec une lésion de l'amygdale ou du CPF ventromédian, il n'y a pas d'adaptation de la stratégie, ces patients persistent dans l'erreur et aucune modification anticipatoire de la RED n'est observée. En plus de ce test de cartes, la RED a été enregistrée au cours d'un conditionnement associatif entre une image et un son fort et désagréable. Les auteurs mentionnent que la RED des patients sans CPF suit un décours temporel normal en comparaison des contrôles (augmentation en début de conditionnement puis diminution par la suite) alors que les patients sans amygdale n'acquièrent pas le conditionnement car ne modifient pas leur RED au cours de cette séance. Les auteurs concluent de cette étude que les sujets sans amygdale ne changent pas de stratégies car ils sont incapables d'attribuer une valeur émotionnelle négative à leurs mauvais choix. La perte financière ne joue pas son rôle d'inducteur primaire. Pour les sujets avec une lésion du CPF, le déficit de changement de stratégie est différent: l'amygdale joue sans doute son rôle d'inducteur primaire (ces patients ont une amygdale fonctionnelle qui leur permet d'acquérir un conditionnement) mais leur incapacité à stocker une représentation des conséquences de leurs choix, c'est-à-dire de mettre en mémoire un inducteur secondaire, va les empêcher, par la suite, de prendre en compte les conséquences de leurs choix et donc d'adapter leur comportement.

On voit donc que les émotions produites par un choix précédent vont influencer les représentations mentales d'un choix en cours et moduler le raisonnement et donc la prise de décision qui suit.

2.2.9. Joseph LeDoux, l'amygdale et la peur

Portrait 14
Joseph LeDoux

Parallèlement, l'étude des bases neuronales des émotions est revenue au premier plan grâce aux travaux de Joseph LeDoux (voir Portrait 14) sur l'émotion de peur. A l'aide du paradigme du conditionnement de peur, qui consiste à associer un son neutre et des chocs électriques aux pattes chez le rat (ce protocole est décrit et discuté plus précisément dans le chapitre suivant), il a démontré le rôle clé de l'amygdale comme relais essentiel pour conférer une valeur émotionnelle négative à des stimuli initialement neutres et déclencher les réactions comportementales et neurovégétatives adaptées (pour revue, voir Ledoux, 2000).

Sa théorie propose l'idée de deux voies distinctes de traitement lorsqu'un stimulus potentiellement dangereux est perçu (par exemple, la vue d'un serpent) (Phelps et Ledoux, 2005). La première, *rapide et grossière* (*rapid but crude)*, permet de traiter le stimulus rapidement mais de façon peu précise, c'est-à-dire avant même de savoir s'il s'agit réellement d'un serpent ou d'une simple branche y ressemblant et de déclencher automatiquement toutes les réactions de peur permettant éventuellement de faire face au danger. La deuxième, *lente et précise* (*slower but veridical*) permet un traitement plus fin mais plus lent du stimulus et permet de mettre en œuvre les comportements adaptés de peur s'il s'agit d'un serpent ou au contraire d'inhiber cette émotion superflue s'il ne s'agit que d'une branche (voir Figure 2.6).

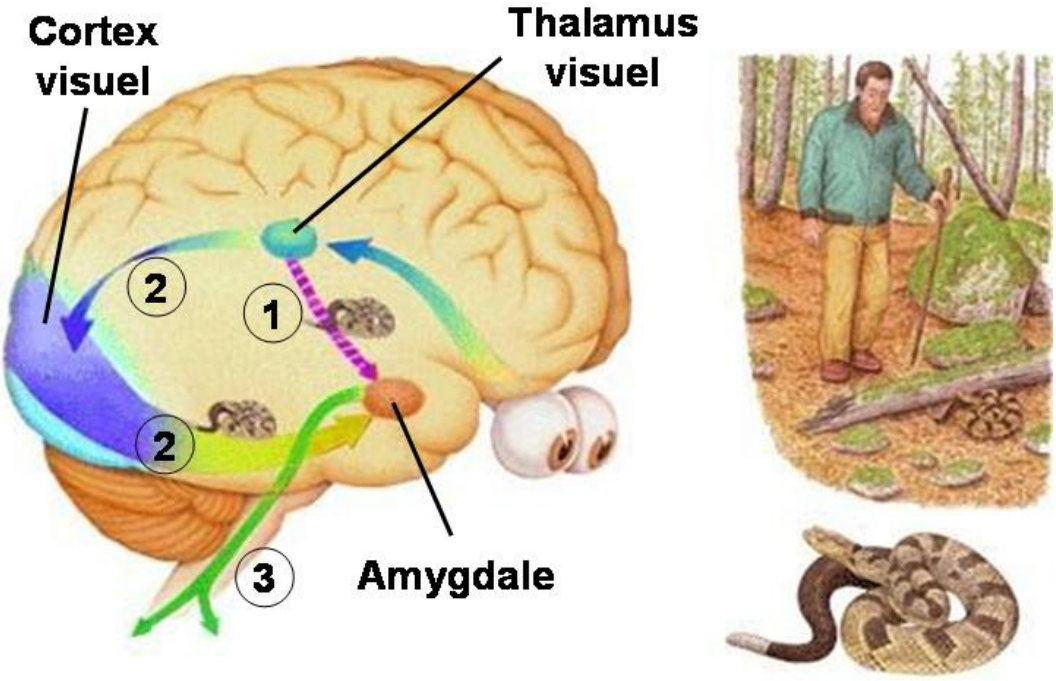


Figure 2.6 Les deux voies de traitement de la peur dans le système visuel selon Joseph LeDoux
1: voie thalamus → amygdale, *rapide et grossière*.
2: voie thalamus → cortex → amygdale, *lente et précise*.
3: déclenchement des réponses de peur

Les travaux de LeDoux ont permis de mieux appréhender les mécanismes neuronaux des émotions et des liens étroits qui les relient à la mémoire. Ses travaux seront discutés plus amplement dans le chapitre 3.

2.3. Relations entre émotions et mémoire: la peur comme modèle d'étude

2.3.1. Emotions et mémoire, quelques généralités

Trois questions très simples: tout d'abord, où étiez vous quand vous apprîtes les attentats perpétrés contre les Twin Towers le 11 septembre 2001 ? Ensuite, où étiez-vous lorsque l'équipe de France battit sèchement celle du Brésil en finale de coupe du monde de

foot le 12 juillet 1998 ? Enfin, vous souvenez vous du menu de votre dîner d'il y a trois jours? Trois questions triviales. Cependant, aux deux premières, vous répondrez sans aucun doute très facilement, vous serez sûrement capables de vous remémorer un grand nombre de détails, si vous étiez chez vous ou non, ou quel état était le votre à ce moment là. Pour la dernière en revanche, vous aurez certainement une plus grande difficulté à répondre, voire une incapacité. Ces quelques questions sont représentatives de l'effet des émotions sur la mémorisation: les expériences personnelles qui ont une forte valence émotionnelle, négative ou positive (rappelez vous de votre premier baiser…) sont très facilement retenues, alors que celles sans signification émotionnelle particulière ne le sont pas ou peu (pour revue, voir Cahill et McGaugh, 1998).

Deux raisons pourraient expliquer cette facilitation de rétention des expériences émotionnelles: tout d'abord, les structures du système limbique, responsables des réactions émotionnelles les plus variées comme la joie, la colère ou la tristesse, interviennent également dans la mise en mémoire et le rappel des souvenirs (Rosenzweig, Leiman et Breedlove, 1998). Par ailleurs, les expériences émotionnelles activeraient les mêmes systèmes de neuromodulation que ceux régulant le stockage à long terme d'une information (McGaugh, Cahill et Roozendaal, 1996).

Il n'est donc pas surprenant de constater qu'il existe un lien très fort entre émotions et mémoire.

2.3.2. L'émotion de peur et les systèmes neuromodulateurs

Pour étudier les relations qui existent entre mémoire et émotion, plusieurs approches expérimentales ont été utilisées (par exemple, voir Baxter et Murray, 2002 pour une revue sur le rôle de l'amygdale dans les conditionnements de type stimulus-récompense). Par exemple, l'utilisation de médicaments antidépresseurs fournit une démonstration très convaincante de ces relations. L'utilisation d'agoniste du système GABAergique produit des effets anxiolytique *et* amnésiants alors que l'utilisation de substances anxiogènes facilitent la mise en mémoire (pour revue, voir Chapouthier et Venault, 2002). Ces données montrent qu'un même système neuromodulateur agit à la fois sur les émotions et la cognition (Chapouthier et Martin, 1992).

Néanmoins, l'émotion la plus étudiée aujourd'hui est la peur. Pour celle-ci, il existe un consensus pour l'inclure dans la liste des émotions de base (pour mémoire, voir paragraphe 2.1.1 concernant la difficulté à trouver une liste d'émotions de base sur laquelle les auteurs s'accordent). Dans le cas de la peur, les hormones de stress libérées par les glandes surrénales, catécholamines et glucocorticoïdes, permettraient de faire réagir l'animal au danger mais agiraient également sur la consolidation de la mémoire. Le souvenir de cet événement apeurant serait ainsi plus résistant à l'oubli (pour revue, voir Cahill, 2000; Cahill et McGaugh, 1998). Mais par quels moyens?

Lors de l'évènement apeurant, le système noradrénergique central serait rapidement activé par l'adrénaline périphérique (pour revue, voir McGaugh, 2004; McGaugh et Roozendaal, 2002). Lors d'un stress, l'adrénaline est sécrétée par les glandes surrénales au niveau périphérique et permet de mobiliser les ressources énergétiques disponibles pour faire face au danger mais facilite également la rétention de l'apprentissage. En effet, l'apprentissage de peur est facilité par l'injection périphérique d'adrénaline dans un délai très court après, c'est-à-dire à un moment où cette hormone serait normalement sécrétée suite au stimulus aversif (Gold et Van Buskirk, 1975). Mais le rôle de l'adrénaline est indirect puisqu'elle ne franchit pas la barrière hémato-encéphalique. Elle se fixe sur les récepteurs β Adrénergiques du nerf vague qui pénètre alors dans le système nerveux central en se projetant sur le tronc cérébral, dans le noyau du tractus solitaire. Ainsi, l'inactivation de ces récepteurs adrénergiques du nerf vague ou du tronc cérébral inhibe l'action facilitatrice sur la mémoire de l'injection d'Ad (Packard, Williams, Cahill et McGaugh, 1995). Le noyau du tractus solitaire sécrète alors de la noradrénaline au niveau central, hormone qui joue le rôle de facilitateur de la consolidation, notamment via son action (directe ou indirecte via le locus coeruleus) sur les récepteurs adrénergiques β et α1 de l'amygdale, une structure qui sera détaillée plus tard (Paragraphe 3).

Un deuxième système neuromodulateur est activé plus tardivement, le système des glucocorticoïdes (Lupien et McEwen, 1997). Les corticostérones (cortisol chez l'homme) libérées lors du stress passent la barrière hémato-encéphalique et pénètrent dans le système nerveux central et sont également capables de moduler la consolidation de la mémoire, via une action directe sur l'amygdale ou indirecte via le noyau du tractus solitaire (pour revue, voir McGaugh, 2004). L'injection périphérique (Roozendaal, Portillo-Marquez et McGaugh, 1996; Roozendaal et McGaugh, 1996a; Roozendaal et McGaugh, 1996b) ou centrale (Roozendaal et McGaugh, 1997a; Roozendaal et McGaugh, 1997b) d'agonistes des corticostérones permet de potentialiser la consolidation de la mémoire et augmente la

rétention des apprentissages chez les animaux testés. Pour résumer, lors d'une expérience stressante, l'activation des systèmes neuromodulateurs rapides (systèmes adrénergique et noradrénergique) et lent (système des glucocorticoïdes) va permettre une potentialisation de la consolidation de la mémoire. Ainsi, un évènement ayant une valence émotionnelle sera mieux retenu qu'un évènement à valence émotionnelle neutre (voir Figure 2.7).

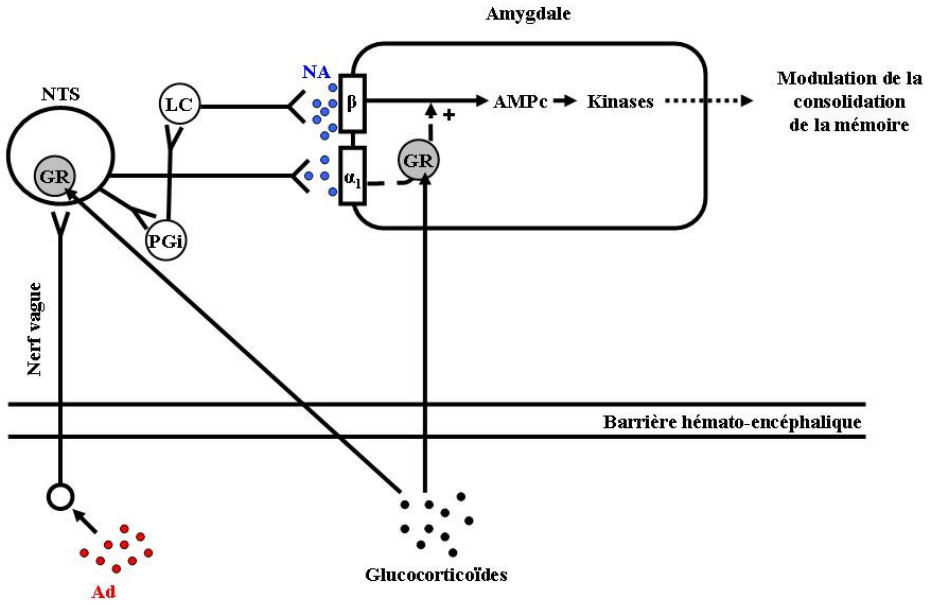


Figure 2.7 Neuromodulation de la mémoire par les hormones de stress via l'amygdale (d'après McGaugh et Roozendaal, 2002)

α_1 et β: types de récepteurs adrénergiques
AMPc = adénosine monophosphate cyclique
LC = locus cœruleus
PGi = noyau paragigantocellulaire
Ad, NA = adrénaline et noradrénaline
GR = récepteurs aux glucocorticoïdes
NTS = noyau du tractus solitaire
+ = rétrocontrôle positif

Chapitre 3

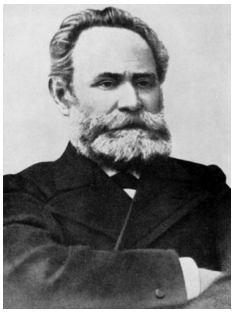
La peur conditionnée, un modèle d'étude des apprentissages émotionnels

Pour étudier le rôle de la peur dans la facilitation de la consolidation, et plus généralement le rôle des émotions sur la mémoire, un paradigme expérimental est très classiquement utilisé, le conditionnement pavlovien de peur. Dans un premier temps, le conditionnement de Pavlov ou conditionnement classique sera d'abord présenté suivi de la description plus détaillée du conditionnement pavlovien de peur.

3.1. Pavlov, ses chiens et son conditionnement

En 1927, Ivan Petrovich Pavlov (1849-1936, Portrait 15) publie ses travaux sur l'élaboration d'un modèle animal d'apprentissage, nommé aujourd'hui conditionnement de Pavlov (ou pavlovien) ou conditionnement classique (Pavlov, 1927).

3.1.1. Expérience originelle



Portrait 2
Ivan Pavlov
(1849-1936)

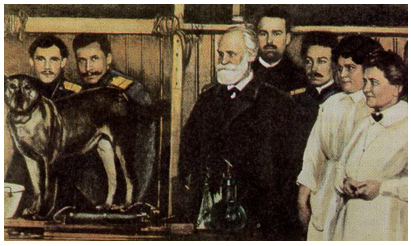


Figure 3.1
Pavlov en démonstration

L'expérience fut la suivante: un chien placé dans un harnais de contention est équipé d'un système de récupération de la salive (voir Figure 3.1). Pavlov savait que placer de la poudre de viande sur les muqueuses buccales faisait automatiquement saliver ce chien. Il mentionne que "*lorsque de la nourriture ou quelque substance impalatable rentre dans la bouche de l'animal, elle entraîne une sécrétion salivaire qui humidifie, dissout et altère chimiquement cette nourriture, ou qui, dans le cas de substances désagréables, la fait rejeter et nettoyer la bouche*". Selon Pavlov, cette réaction est donc déjà *inscrite* dans l'organisme, que le chien l'ait acquise par apprentissage ou qu'elle fasse partie du registre des réponses innées. Dans ce cas, la poudre de viande est appelée *stimulus inconditionnel*, c'est-à-dire que par

nature, ce stimulus est signifiant pour l'animal. Le registre des réponses neurovégétatives (ici la salivation) ou comportementales est celui des *réponses inconditionnées* puisqu'elles ne sont pas manifestées par apprentissage mais entraînées automatiquement par la nature même du stimulus inconditionnel. Par la suite, Pavlov fit systématiquement sonner une clochette juste avant de donner la poudre de viande à l'animal. Ce son est initialement neutre pour l'animal, c'est-à-dire qu'il n'est pas signifiant pour lui et n'entraîne aucun comportement particulier si ce n'est une hausse de l'état d'éveil. Ce stimulus est appelé *stimulus conditionnel*. Au bout de quelques associations entre le son de la clochette et le don de poudre de viande, Pavlov nota que le tintement de la clochette à lui seul entraînait une réponse de salivation de l'animal. Que s'est-il passé ?

3.1.2. Principes de l'expérience

Dans cette expérience, le chien a créé un lien causal entre le tintement de la cloche et l'arrivée de la nourriture. En d'autres termes, le stimulus neutre qui n'avait initialement pas de conséquences neurovégétatives ni de signification comportementale particulière a acquis un caractère de prédictibilité de l'arrivée du stimulus inconditionnel et entraîne une salivation, *sans qu'aucune poudre de viande ne soit donnée*. Il est donc réellement devenu un stimulus conditionnel. En effet, dans ce cas, la salivation induite par cette clochette est conditionnée par le stimulus conditionnel et représente donc une *réponse conditionnée* qui résulte de l'apprentissage.

Pavlov remarqua ensuite que si le son de la clochette n'était plus renforcé par la distribution de poudre de viande, la réponse de salivation disparaissait progressivement. Il nomma ce phénomène *extinction*. Enfin, si le stimulus conditionnel était à nouveau associé au stimulus inconditionnel, la réponse conditionnée de salivation réapparaissait à nouveau mais beaucoup plus rapidement que lors de la première série d'association, preuve qu'une *trace* de l'association préalablement apprise subsistait *quelque part*, même si elle ne se manifestait plus suite à l'extinction, Pavlov parla de *réinstallation*.

L'expérience peut se résumer ainsi:

Avant conditionnement

Poudre de viande (stimulus inconditionnel) → Salivation (réaction inconditionnée)

Son de la clochette (stimulus neutre) → Réaction d'éveil

Phase de conditionnement

Association Son + Poudre de viande → Salivation (réaction inconditionnée)

Après conditionnement

Son de la clochette (stimulus conditionnel) → Salivation (réponse conditionnée)

Phénomène d'extinction et de réinstallation

Ce genre d'associations entre un stimulus initialement neutre et des stimuli inconditionnels se rencontre chaque jour. Pavlov notait ainsi que "*la vue de la gamelle par laquelle le chien est nourri suffit à entraîner une salivation et, plus encore, cette réaction peut être produite par la vue de la personne qui donne habituellement la nourriture, ou également par le bruit de son pas dans la pièce voisine*". Ce type de conditionnement est aujourd'hui un modèle de choix dans l'étude de la neurobiologie des apprentissages, et plus particulièrement des apprentissages émotionnels.

3.2. Le conditionnement pavlovien de peur

3.2.1. Principes

Au même titre que l'expérience initiale de Pavlov, un conditionnement pavlovien de peur consiste à apparier de façon contiguë un stimulus conditionnel (SC) initialement neutre à un stimulus inconditionnel signifiant (SI) afin d'obtenir des réponses conditionnées à la simple présentation du stimulus conditionnel. Seulement, dans ce type de conditionnement, le stimulus inconditionnel est aversif et entraîne des réponses inconditionnées de peur. Après quelques associations de type SC-SI, la présentation seule du SC entraîne une série de réponses conditionnées de peur, réponses à la fois neurovégétatives et comportementales facilement quantifiables. Un exemple classique de la neuropsychologie est l'histoire du Petit Albert, expérience menée sur un enfant de 11 mois au début du siècle dernier (Watson et Rayner, 1920). Dans cette expérience, la peluche d'un rat blanc a été présentée au bébé. Au

début, celui-ci s'est montré curieux, a voulu la toucher et, chose importante, n'a pas été apeuré par ce jouet. Par la suite, chaque fois que le Petit Albert touchait le rat blanc, les expérimentateurs frappaient une barre de fer avec un marteau près de la tête du bébé (SI), ce qui le faisait sursauter et pleurer (réponse inconditionnée). Quand cette association a été faite suffisamment de fois, approcher la peluche (SC) de la main du petit Albert entraînait chez lui un geste de retrait et le faisait pleurer (réponse conditionnée). La valence émotionnelle de la peluche avait été modifiée par apprentissage. Cet exemple illustre bien que dès les premiers âges de vie, le cerveau est capable de faire une association entre un SC neutre (et même plutôt positif dans cette expérience) et un SI aversif.

3.2.2. Séance de conditionnement

Depuis, bien loin de ces expériences originelles traumatisantes pour les jeunes enfants, de nombreuses études ont été menées dans les laboratoires. Bien que ce type de conditionnement soit possible dans tous les phylla animaux, que ce soit chez les mollusques (aplysie), les insectes (mouches), les annélides (vers), les oiseaux (pigeons), les poissons, les primates (homme, singe), la majorité des études a été faite sur des petits mammifères, notamment des rongeurs (rats, souris, cochons d'Inde, lapins…) (pour revue, voir Ledoux, 2000). Classiquement, ces expériences vont consister à placer l'animal dans une cage de conditionnement et à associer un SC à un SI au cours d'une séance de conditionnement. Le SC peut être un flash lumineux, une odeur mais dans la plupart des études, le SC est un son, auquel fait suite de façon contiguë un SI aversif, généralement un léger choc électrique aux pattes de l'animal (pour revue, voir Fendt et Fanselow, 1999; Kim et Jung, 2006; LeDoux, 2000; Maren, 2001, 2005). Au cours de cette séance, la répétition de quelques associations son-choc permet au son de devenir un bon indice prédictif de l'arrivée des chocs électriques aux pattes pour l'animal.

En parallèle, l'animal apprend également à associer le contexte dans lequel se passe le conditionnement avec les chocs électriques. Ainsi, ce contexte initialement neutre va également devenir signifiant pour l'animal. Cependant, lors d'appariements contigus entre SC et SI, les animaux créent un lien prédictif plus fort avec le SC élémentaire, c'est-à-dire le son, qu'avec le contexte. Ainsi, Baldi, Lorenzini et Bucherelli (2004) ont montré que l'apprentissage du SC est possible pour des chocs de faible intensité (0.3 mA) qui n'entraînent

pas de conditionnement au contexte. Dans cette étude, une intensité minimum de 0.6 mA est nécessaire pour que SC et contexte soient appris au cours de la séance de conditionnement. Les animaux font donc plus aisément le lien SC-SI que Contexte-SI.

Notons dès à présent que la notion de contiguïté entre SC et SI est primordiale puisqu'il a été montré qu'il existe une compétition entre l'apprentissage du SC et du contexte (Desmedt, Garcia et Jaffard, 1999) et qu'augmenter le délai entre le SC et le SI va faire perdre au SC son caractère prédictif. Il est donc possible de faciliter ou au contraire perturber l'apprentissage du contexte pour l'animal simplement en modifiant le délai entre SC et SI (pour revue, voir Marchand, Luck et Di Scala, 2004). Toutefois, les travaux de cette thèse s'insèrent dans l'étude de l'acquisition d'un apprentissage à un SC et non pas au contexte de conditionnement, c'est-à-dire que je m'intéresserai uniquement aux conditionnements de peur où SC et SI sont appariés et contigus. Dans ces expériences, le SC va acquérir un caractère prédictif fort de l'arrivée de chocs aux pattes par apprentissage. Néanmoins, un paragraphe sera consacré à l'apprentissage de peur conditionnée au contexte de conditionnement (paragraphe 3.4).

3.2.3. Tests de rappel: mesures de l'apprentissage

Pour évaluer l'apprentissage, l'animal est testé suite au conditionnement (vingt-quatre heures après la plupart du temps) au cours d'un test de rappel. Comme mentionné précédemment, au cours du conditionnement, l'animal apprend à la fois le SC et le contexte.

Pour tester le bon apprentissage du SC, il faut placer l'animal dans une cage différente de celle du conditionnement afin de ne pas entraîner de réponses de peur conditionnée au contexte (Holland et Bouton, 1999) (voir Figure 3.2). Si l'animal a bien appris l'association, alors, par la suite, la seule présentation du SC va entraîner toute une variété de réponses conditionnées, facilement quantifiables par l'expérimentateur.

Pour tester si l'animal a bien appris le contexte de conditionnement, le simple fait de le remettre dans la cage de conditionnement sans lui donner un quelconque choc aux pattes sera suffisant pour entraîner également des comportements de peur.

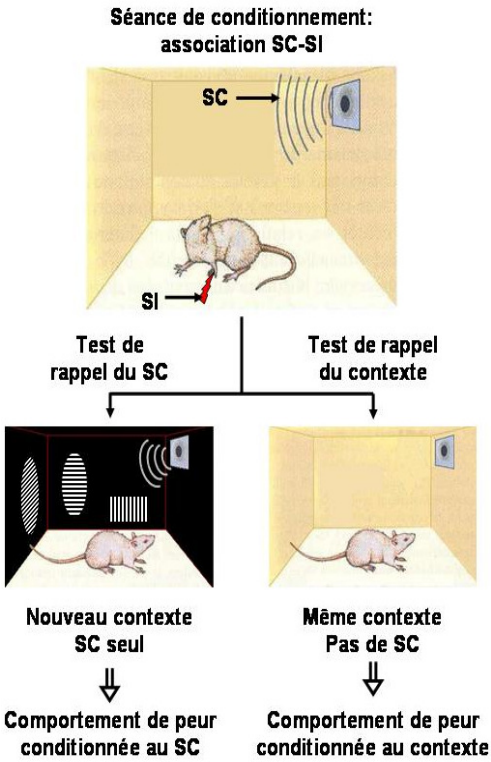


Figure 3.2
Schéma du paradigme de peur conditionnée au son.
En haut: conditionnement
En bas: tests de rappel
SC = stimulus conditionnel
SI = stimulus inconditionnel

Le comportement typique de peur chez le rat est une posture particulière d'immobilité, le *freezing*. Ce comportement est caractérisé par une immobilité complète de l'animal (hormis les mouvements respiratoires), dans une posture recroquevillée, avec la tête basse et le dos bombé (Blanchard et Blanchard 1972 ; Blanchard et Blanchard, 1969). Par la suite, dans le but d'utiliser une terminologie française, je n'emploierai plus le terme de *freezing* mais *immobilité* pour faire référence à cette réponse comportementale de peur.

Parmi les autres réponses, on peut noter une augmentation de la réactivité musculaire qui se caractérise par une potentialisation de la réaction de sursaut de peur (Davis, 1997; Leaton, Cassella et Borszcz, 1985), des phénomènes d'analgésie, c'est-à-dire de baisse du seuil de douleur (Fanselow, 1986; Helmstetter, 1992a, 1992b), l'émission de vocalisations ultrasoniques caractéristiques de l'état de peur à une fréquence de 22kHz (Blanchard, Blanchard, Agullana et Weiss, 1991; Lee, Choi, Brown et Kim, 2001) et des modifications du fonctionnement du système nerveux autonome, telles que des augmentations des rythmes cardiaque et respiratoire ou de la pression artérielle (Iwata, LeDoux et Reis, 1986). Ces réactions de peur, à la fois comportementales et neurovégétatives entraînées par la présentation seule du SC, sont celles naturellement émises par un animal en réponse à une situation de stress ou de danger (un chat ou un renard pour le rat, par exemple, qui sont des prédateurs naturels de l'animal) (LeDoux, 2000). Selon LeDoux (1996, p. 140), "*le conditionnement de peur donne au son la capacité d'activer le système neuronal commandant les réponses de l'animal mis en présence d'un prédateur ou d'un autre danger naturel*" (voir Figure 3.3). Ainsi, se servir du paradigme de peur conditionnée, c'est utiliser des comportements émotionnels naturels de l'animal. De plus, cet apprentissage est très rapide, généralement quelques associations SC-SI suffisent (il arrive même qu'une seule association soit suffisante). Enfin, il est robuste puisqu'il est retenu sur de longues périodes

allant jusqu'à plusieurs mois (par exemple, voir Gale et collaborateurs, 2004). Toutes ces caractéristiques réunies expliquent pourquoi ce type d'apprentissage est un modèle largement utilisé pour étudier les mécanismes biologiques de la mémoire en général et des mémoires émotionnelles en particulier (Davis, 1997; Lavond, Kim et Thompson, 1993; LeDoux, 2000).

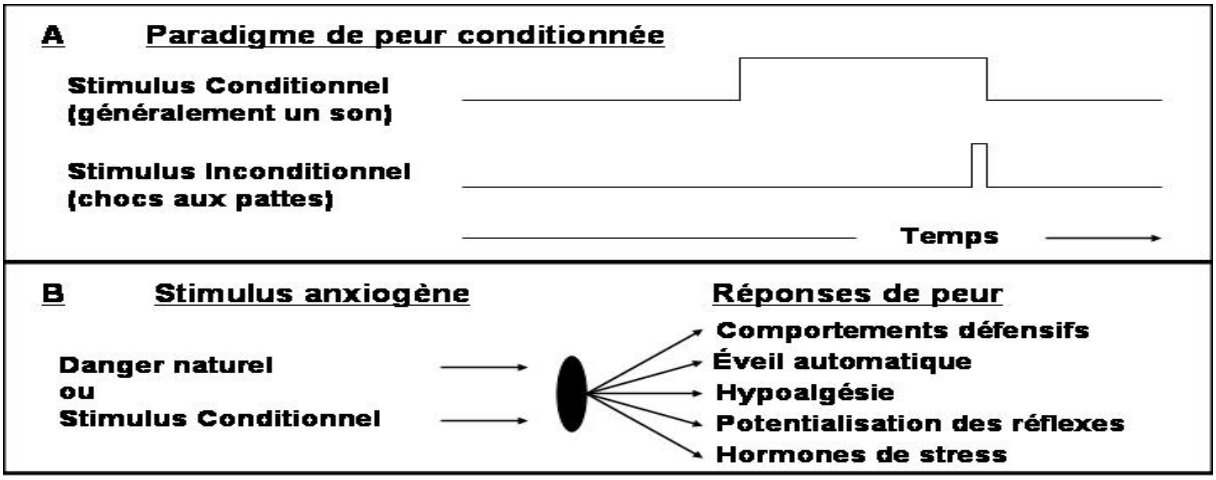


Figure 3.3 Parallèle entre les situations de peur expérimentales (A) et naturelles (B) (d'après LeDoux, 2000)

Avant de rentrer plus précisément dans le sujet de cette thèse, le conditionnement de peur à l'odeur, voyons ensemble ce que l'on sait de l'apprentissage de peur conditionnée.

3.3. Le conditionnement de peur au stimulus conditionnel: importance de l'amygdale

La plupart des expériences conditionnée de peur ayant été effectuées avec des SC sonores (et dans une moindre mesure visuels), dans un premier temps, une revue sera faite concernant uniquement les conditionnements de peur non olfactifs.

3.3.1. L'amygdale, quelques généralités

L'amygdale, structure du système limbique, est primordiale dans le traitement des émotions et est largement reconnue comme étant impliquée dans l'acquisition et l'expression

d'une peur conditionnée au son (pour revue, voir Davis et Whalen, 2001; LeDoux, 2000; Kim et Jung, 2006; Maren, 2001, 2005; Maren et Fanselow, 1996).

Portrait 16
Karl Burdach
(1776-1847)

Dès le début du 19ème siècle, Karl Friedrich Burdach (1776-1847, voir Portrait 16) décrit pour la première fois une masse de matière grise en forme d'amande dans le lobe temporal humain et lui a ainsi donné le nom d'amygdale qui, étymologiquement, signifie *amande*, en grec (Burdach, 1819). Depuis, cette masse de cellules a été définie plus précisément comme étant le complexe basolatéral de l'amygdale et de nombreuses autres structures y ont été ajoutées ensuite. De fait, la description actuelle de l'amygdale est très éloignée de la première observation faite par Burdach (pour revue, voir Pitkänen, Savander et LeDoux, 1997; Sah, Faber, Lopez de Armentia et Power, 2003; Swanson et Petrovich, 1998). Dans la littérature, de nombreuses fonctions ont été attribuées à cette structure, incluant la mémoire, l'attention, l'interprétation de la signification émotionnelle des stimuli sensoriels, la perception de mouvements corporels ou la génèse des aspects émotionnels des rêves. Le nombre des différents noyaux qui la composent, qui peuvent être distingués sur des bases cytoarchitectoniques, chimioarchitectoniques ou encore de connections, a amené certains auteurs à se demander si le concept d'amygdale structurellement et fonctionnellement homogène était pertinent (Swanson et Petrovich, 1998). Avant d'étudier l'implication de l'amygdale dans le conditionnement de peur au son, effectuons d'abord une description anatomique de cette structure.

3.3.2. Anatomie de l'amygdale

L'amygdale est située dans la partie médiane du lobe temporal chez les mammifères et est composée de nombreux noyaux. Cette structure est hétérogène, tant au niveau de la structure même des différents noyaux (structure corticale ou non) que de leur origine embryonnaire (Swanson et Petrovich, 1998). De fait, la description anatomique varie selon les études, et il n'existe pas de consensus formel concernant le nombre et le nom donné à l'ensemble de ces noyaux (voir Krettek et Price, 1978; Pitkänen, Savander et LeDoux, 1997; Sah, Faber, Lopez de Armentia et Power, 2003; Swanson et Petrovich, 1998).

3.3.2.1. Description anatomique de Sah et collaborateurs

Pour la suite, nous utiliserons la description anatomique proposée par Sah, Faber, Lopez de Armentia et Power (2003), qui se rapproche très fortement de celle de Pitkänen, Savander et LeDoux (1997). Les acronymes utilisés dans le texte seront ceux des figures. Ces auteurs proposent l'existence de 13 noyaux distincts (voir Figure 3.4):

3.3.2.1.1. Le complexe basolatéral de l'amygdale (Figure 3.4, partie bleue)

Le complexe basolatéral de l'amygdale (BLA) correspond à l'amygdale originelle définie par Burdach en 1819, et est subdivisé en 3 différents sous noyaux (Pitkänen, Savander et LeDoux, 1997; Sah, Faber, Lopez de Armentia et Power, 2003): le noyau latéral (LA), le noyau basal (BL), parfois appelé noyau basolatéral (Swanson et Petrovich, 1998) et le noyau basal accessoire (AB), appelé parfois noyau basomédian (Swanson et Petrovich, 1998).

Le LA est le plus dorsal des trois et est séparé en divisions dorsolatérale (LAdl), ventrolatérale (LAvl) et médiane (LAm). Il est entouré latéralement par la capsule externe, de façon médiane par le noyau central de l'amygdale (voir paragraphe sur les noyaux centromédians), et ventralement par le BL. Ce dernier est séparé en divisions magnocellulaire (Bmc), intermédiaire (Bi) et parvicellulaire (Bpc) et repose sur le AB, lui-même séparé en division magno- (ABmc) et parvicellulaire (ABpc) (Pitkänen, Savander et LeDoux, 1997), certains auteurs lui rajoutent une division intermédiaire (Sah, Faber, Lopez de Armentia et Power, 2003).

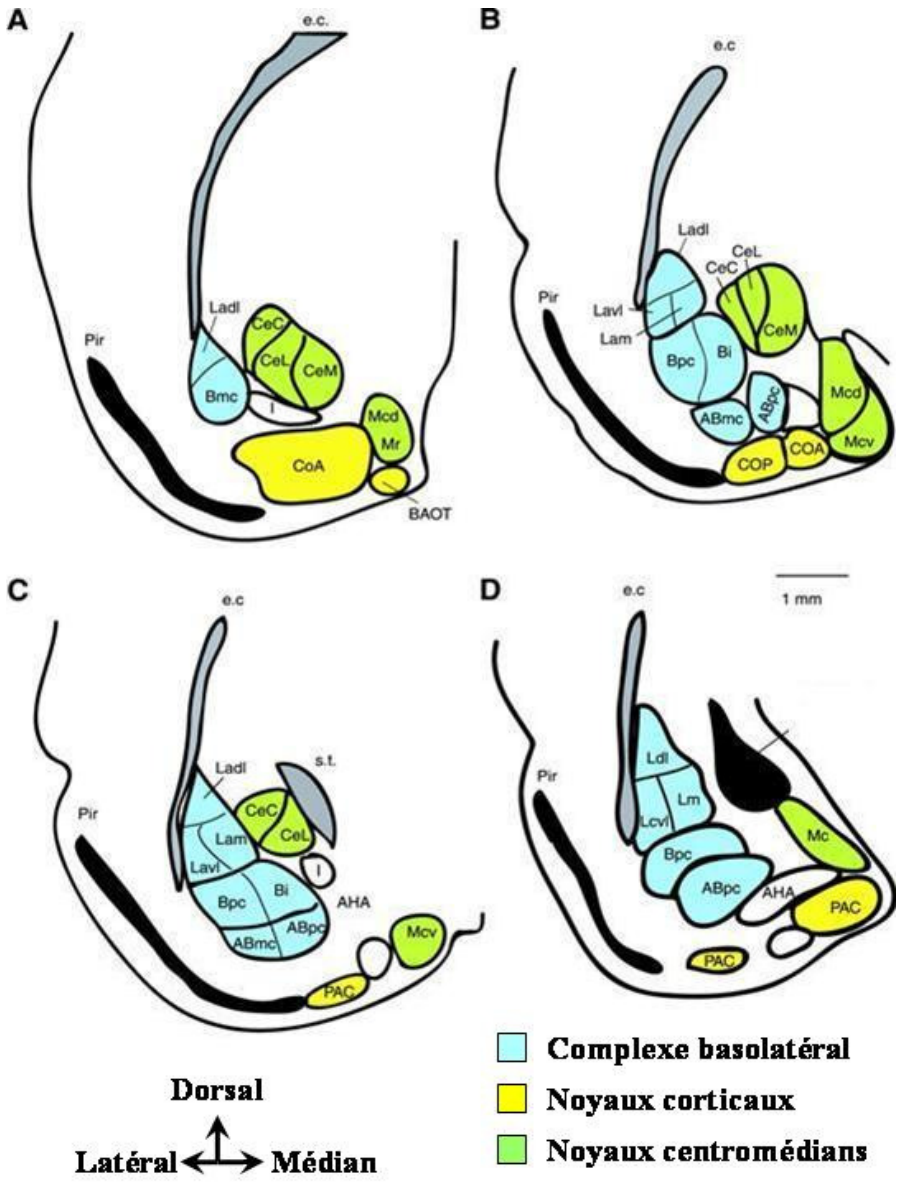


Figure 3.4 Schéma de l'amygdale
(pour les légendes, voir le texte)

3.3.2.1.2. Les noyaux corticaux (Figure 3.4, partie jaune)

A la différence du BLA qui est un noyau au sens strict, c'est-à-dire une structure sans organisation en couche, l'amygdale contient également certaines autres structures appelées noyaux mais qui sont organisées en couches et sont superficielles, comme les cortex, d'où le nom de noyaux corticaux. Ces différentes structures sont le noyau du tractus olfactif latéral (non représenté sur la figure), le noyau du tractus olfactif accessoire (BAOT), le noyau cortical (ACo), antérieur (ACoa) et postérieur (ACop) constitué de trois couches de neurones pyramidaux, et enfin, le cortex périamygdalien (PAC), séparé lui-même en trois subdivisions,

la division périamygdalienne, la division sulcale (*sulcal division* en anglais) et la division médiane. Bien que les divisions ne soient pas rigoureusement les mêmes, pour Swanson et Petrovich (1998), le noyau du tractus olfactif latéral et le noyau cortical devraient être plutôt considérées comme des parties distinctes du cortex piriforme (Pir sur la Figure 3.4), puisqu'ils reçoivent des afférences nombreuses du bulbe olfactif et sont organisés en structures corticales.

3.3.2.1.3. Les noyaux centromédians (Figure 3.4, partie verte)

Dans la partie la plus médiane de l'amygdale, se trouvent le noyau du lit de la strie terminale (BNST), le noyau central (Ce), séparé en division capsulaire (CeC), latérale (CeL), intermédiaire (CeI) et médiane (CeM), et enfin, le noyau médian (Me), séparé en division rostrale (Mr), dorsocentrale (Mcd), ventrocentrale (Mcv) et caudale (Mc). Pour Swanson et Petrovich (1998), le Ce et le Me, qui prolongent ventralement le striatum, sont en fait une extension amygdalienne du striatum

3.3.2.1.4. Les autres noyaux amygdaliens

Les trois derniers noyaux de l'amygdale sont l'aire amygdalohippocampique (AHA) qui borde de façon médiane le AB et est séparée en partie médiane et latérale (voir Figure 3.4, partie verte), les noyaux intercalés (I) et l'aire amygdalienne antérieure (AAA). Swanson et Petrovich (1998) proposent d'inclure cette dernière aire avec les noyaux central et médian dans le groupe des noyaux striataux de l'amygdale.

3.3.2.2. Les systèmes fonctionnels de Swanson et Petrovich

Swanson et Petrovich (1998) remarquent que les descriptions anatomiques faites de l'amygdale regroupent en fait de manière arbitraire plusieurs noyaux qui sont structurellement et fonctionnellement différents et n'ont pas la même origine embryonnaires. Les auteurs proposent donc de regrouper les noyaux amygdaliens en quatre systèmes fonctionnels distincts (voir Figure 3.5 p.81), sans tenir compte de l'organisation structurale des différents noyaux mais de leurs origines embryonnaires: le système frontotemporal, le système olfactif principal, le système olfactif accessoire et le système autonome. Les auteurs considèrent que les noyaux du complexe basolatéral et le noyau cortical ont la même origine embryonnaire

que les cellules corticales (partie B, en bleu) et doivent donc être séparés sur des bases anatomiques des noyaux central et médian qui ont une origine embryonnaire striatale (partie B, en rose). Dans leur description fonctionnelle, une grosse partie de l'amygdale est une amygdale olfactive (partie C, en jaune) car de nombreuses afférences proviennent des bulbes olfactifs principal et accessoire: le système olfactif accessoire (partie C, en jaune foncé) est formé du noyau médian (MEA) d'origine striatale et de certains noyaux classés comme embryologiquement identiques aux cellules corticales, ici le noyau cortical postéromédian (ACOpm) et d'une partie du noyau amygdalien postérieur (PA). Le système olfactif principal (partie C, en jaune pâle) serait formé de différentes subdivisions des noyaux basomédian (BM), cortical (ACO), basal (BLA) et d'autres structures que sont l'aire de transition post-piriforme (TR) et l'aire amygdalo-piriforme (PAA).Le système autonome ne contiendrait que le noyau central (partie C, en rose). Enfin, le système frontotemporal (partie C, en vert) serait composé des noyaux basal antérieur (BLAa) et latéral (LA).

Cette division de l'amygdale en unités fonctionnelles tient donc largement compte de l'origine embryonnaire des différents noyaux. Cependant, même si certains noms de noyaux ne sont pas exactement les mêmes que la description proposée pas Sah, Faber, Lopez de Armentia et Power (2003), cette dernière recoupe finalement assez largement celle de Swanson et Petrovich (1998): les noyaux du complexe basolatéral recoupent le système frontotemporal, les noyaux centromédians le système autonome et les noyaux corticaux les deux systèmes olfactifs.

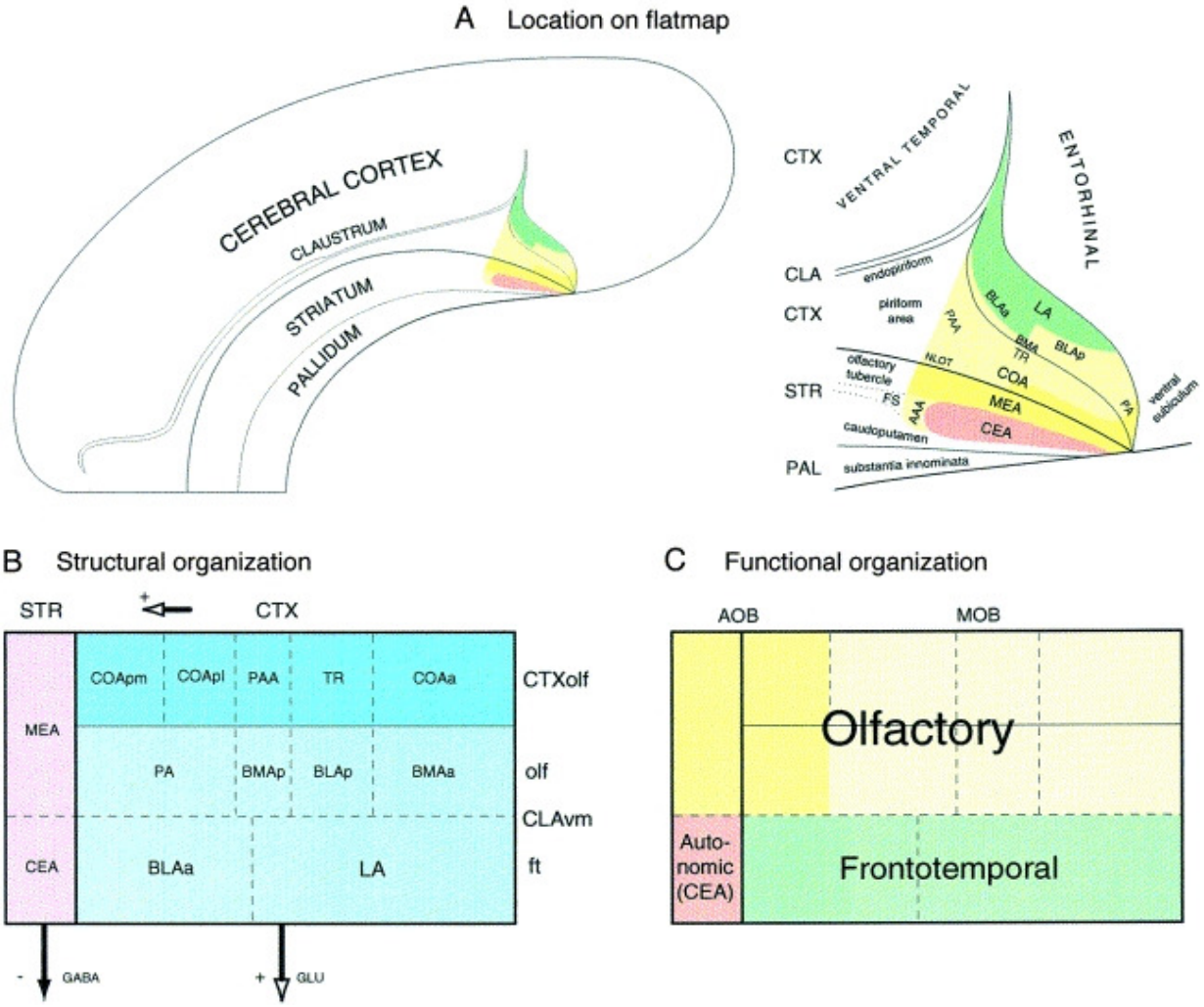


Figure 3.5 Les systèmes fonctionnels de l'amygdale de Swanson et Petrovich (1998)

AOB: Bulbe olfactif accessoire ; BLA a, p: Noyau basolatéral de l'amygdale, antérieur et postérieur ; BMA a, p: Noyau basomédian de l'amygdale, antérieur et postérieur ; CeA: Noyau central de l'amygdale ; CLAvm: Claustrum ventromédian ; COA a, pl, pm: Noyau cortical de l'amygdale, antérieur, postérolatéral et postéromédian ; CTX: Cortex cérébral ; CTXolf: Partie amygdalienne du Cortex piriforme ; ft: Partie frontotemporale du claustrum ; GABA: Acide γ-amino-butyrique ; GLU: glutamate ; LA: Noyau latéral de l'amygdale , MeA: Noyau médian de l'amygdale ; MOB: Bulbe olfactif principal: olf: Partie olfactive du claustrum ; PA: Aire périrhinal postérieure ; PAA: Aire amygdale-piriforme ; STR: Striatum ; TR: Aire de transition post-piriforme

3.3.3. L'amygdale, une structure centrale…

Aujourd'hui, la plupart des auteurs s'accordent à attribuer à l'amygdale un rôle primordial dans l'acquisition et la rétention d'un apprentissage de peur conditionnée, ainsi que dans l'expression de cet apprentissage (Le Doux, 2000; Phelps et LeDoux, 2005; Davis et Whalen, 2001; Fanselow et LeDoux, 1999; Maren, 2001, 2005; pour un point de vue

différent, voir Cahill, Weinberger, Roozendaal et McGaugh, 1999). Voyons les arguments expérimentaux qui permettent d'étayer cette hypothèse.

3.3.3.1. Arguments anatomiques: Voies de traitement du SC et du SI

De nombreuses études ont montré que les voies de traitement du SC sonore et du SI aversif convergent anatomiquement au niveau de l'amygdale, plus particulièrement dans le LA (LeDoux, 2000; Maren, 2001). En effet, de nombreux neurones de ce noyau répondent aux stimuli nociceptifs et sonores (Romanski, Clugnet, Bordi et LeDoux, 1993).

3.3.3.1.1. Voies de traitement du SC sonore

Comme la majorité des études en conditionnement de peur a été faite avec des sons, ce paragraphe est consacré aux voies de traitement auditif. Il a été montré que les afférences sonores se font majoritairement au niveau du LA (LeDoux, Farb et Ruggiero, 1990; LeDoux, Sakaguchi et Reis, 1984; Romanski et LeDoux, 1993; McDonald, 1998), soit directement via le thalamus auditif, soit indirectement via le cortex auditif primaire (LeDoux, Farb et Ruggiero, 1990; Mascagni, McDonald et Coleman, 1993; Romanski et LeDoux, 1993). Le SC sonore serait traité par deux noyaux du thalamus auditif, la partie médiane et ventrale du corps géniculé médian. La partie médiane se projetterait directement sur le LA, tandis que la partie ventrale se projetterait sur le cortex auditif, qui se projetterait à son tour sur le LA (LeDoux, 2000) (voir Figure 3.6 p.90). La voie *thalamus → amygdale* permettrait un traitement rapide mais peu précis d'un stimulus visuel pour une activation rapide des réactions neurovégétatives de peur. Cette voie est appelée *voie rapide et grossière*. A l'inverse, la voie *thalamus → cortex → amygdale*, plus lente, ferait un traitement plus fin du stimulus visuel afin de moduler, le cas échéant, la réaction émotionnelle enclenchée par la voie rapide. Cette voie est appelée *voie lente et précise* (Phelps et LeDoux, 2005).

L'information auditive est également transmise au Ce. Le noyau postérieur du thalamus se projette sur le Ce médian (LeDoux, Ruggiero, Forest, Stornetta et Reis, 1987 ; Linke, Braune, Schwegler, 2000). La voie thalamus/noyau centrale pourrait donc aussi être

une voie importante dans l'apprentissage de peur conditionnée au son (pour revue, voir Paré, Quirk et LeDoux, 2004).

3.3.3.1.2. Voies de traitement du SI aversif

Certaines données montrent que le SI serait traité par une première voie impliquant le locus cœruleus (LC) (pour revue, voir Fendt et Fanselow, 1999). Fendt, Koch et Schnitzler (1994) ont montré que le traitement de l'information nociceptive est relayé à l'amygdale via le noyau paragigantocellulaire du thalamus puis via le LC qui sécrète de la noradrénaline dans le BLA. Ces données corroborent celles montrant que le LC est activé par les chocs électriques et envoie des projections sur le BLA (Chiang et Aston-Jones, 1993; Galvez, Mesches et McGaugh, 1996; Quirarte, Galvez, Roozendaal et McGaugh, 1998).

Par ailleurs, Shi et Davis (1999) ont proposé deux autres voies de traitement de l'information nociceptive. La première est une voie directe, la voie thalamus/amygdale: les noyaux postérieurs triangulaire et intralaminaire du thalamus reçoivent des projections nociceptives de la moelle épinière et se projettent directement sur le LA. La seconde est une voie indirecte, la voie thalamus/cortex/amygdale: les noyaux ventropostérieur latéral et postérieur se projettent sur l'insula qui se projettent alors sur le LA.

Cependant, Lanuza, Nader et LeDoux (2004) ont vérifié cette seconde hypothèse en effectuant des lésions excitotoxiques des zones thalamiques testées par Shi et Davis (1999), c'est-à-dire des lésions spécifiques qui ne touchent pas les fibres de passage: ils ont constaté que la lésion excitotoxique de ces noyaux thalamiques seule ou combinée avec une lésion électrolytique du cortex insulaire n'empêchait pas l'acquisition d'un conditionnement de peur. Ces données montrent qu'il existe probablement plusieurs voies possibles pour que l'information nociceptive parvienne jusqu'au noyau latéral, voies qu'il reste à découvrir.

Par ailleurs, il existe des voies directes de traitement des stimuli nociceptifs sur le Ce. En effet, ce noyau reçoit des informations nociceptives depuis la moelle épinière (Burstein et Potrebic, 1993) et du noyau trigéminal via le noyau parabrachial du pont (Bernard et Besson, 1990), et ses neurones répondent aux stimulations douloureuses thermiques et mécaniques mais pas aux stimulus neutres (Paré, Quirk et LeDoux, 2004). De par la convergence des informations auditives et nociceptives, le Ce pourrait donc, comme le LA, jouer un rôle d'intégration de ces deux types d'informations (Paré, Quirk et LeDoux, 2004).

3.3.3.1.3. Les voies de sortie comportementale

Si le LA est le lieu d'association entre un SC sonore et un SI aversif, quelles sont les structures effectrices permettant la mise en œuvre des réactions neurovégétatives et comportementales de peur ? Le Ce semble être celui par lequel l'information quitte l'amygdale. En effet, il est la voie de projection principale du LA (LeDoux, 2000; Maren, 2001 ; Paré, Quirk et LeDoux, 2004). D'après Swanson et Petrovich (1998), la majorité des efférences des systèmes frontotemporal et olfactif primaire se projettent sur ce noyau qui serait spécialisé pour moduler les réponses motrices. Il serait "*l'interface amygdalienne des réponses de peur*" (Maren, 2001).

Le Ce se projette alors sur de nombreuses structures impliquées dans la génèse des réponses comportementales et neurovégétatives (LeDoux, Iwata, Cicchetti et Reis, 1988). Parmi elles, la substance grise périaqueducale pour l'expression d'immobilité, l'hypothalamus latéral pour les variations de pression sanguine, le noyau paraventriculaire de l'hypothalamus pour les libérations d'hormones de stress (voir Figure 3.6 p.90), le noyau caudé du pont (NC) pour la régulation des réflexes de sursaut de peur, le noyau parabrachial (NPB) pour les variations de fréquence respiratoire, et le noyau basalis (NB) pour l'augmentation de l'éveil en général (pour revue, voir Fendt et Fanselow, 1999).

3.3.3.1.4. Bilan de l'anatomie des voies de traitement du SC via l'amygdale

On voit donc que l'appariement entre un SC sonore et un SI aversif se ferait dans le LA. Chacun des stimuli est traité via ses propres voies, qui se projettent toutes deux sur ce noyau amygdalien. Le LA se projette à son tour sur le Ce qui permet, via ses projections sur le tronc cérébral, d'initier l'ensemble des réponses comportementales et neurovégétatives lors de l'expression de l'apprentissage. L'ensemble de ces observations est résumé sur la Figure 3.6, page suivante.

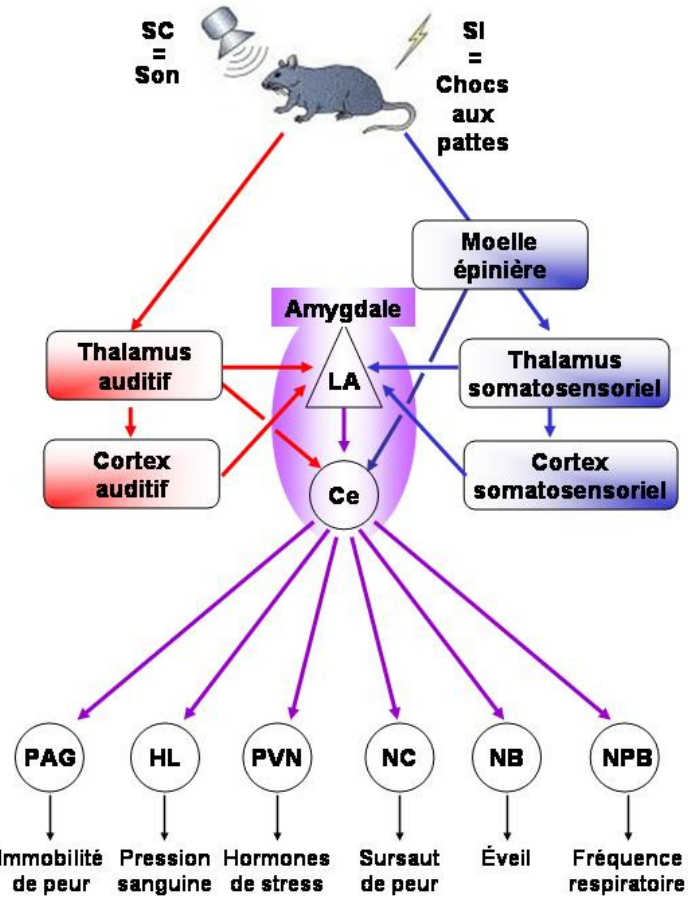


Figure 3.6 Bilan des voies de traitement des stimuli conditionnel et inconditionnel (d'après Phelps et LeDoux, 2005)

Ce= Noyau central de l'amygdale ; HL= hypothalamus latéral ; LA= Noyau latéral de l'amygdale ; NB: Noyau basalis ; NC: Noyau caudé du pont ; NPB: Noyau parabrachial ; PAG: Substance grise périaqueducale ; PVN: noyau paraventriculaire de l'hypothalamus ; SC, SI= Stimulus conditionnel et inconditionnel

3.3.3.2. Approche par lésions

Les expériences de lésion de l'amygdale ont permis de montrer que l'amygdale est impliquée dans l'acquisition et l'expression d'un apprentissage de peur conditionnée. Dans ces expériences, l'amygdale peut être lésée avant ou après apprentissage.

Ainsi, par une lésion électrolytique du LA (LeDoux, Cicchetti, Xagoraris et Romanski, 1990) ou les structures des voies rapide et lente s'y projetant, c'est-à-dire le thalamus ou le cortex auditif (Romanski et LeDoux, 1992a), LeDoux et ses collègues ont montré que les animaux ne montraient plus ni immobilité ni augmentation de pression artérielle à la représentation du SC. De même, la lésion électrolytique du LA empêche l'acquisition du conditionnement de peur et l'expression d'immobilité et d'un autre comportement de peur

conditionnée, l'évitement actif du SC sonore. Dans cette expérience, le Ce semble impliqué dans l'expression passive d'immobilité alors que le BL semble intervenir dans les comportements actifs d'évitement (Amorapanth, LeDoux et Nader, 2000).

D'autres types de lésion utilisant des approches excitotoxiques permettent d'obtenir une lésion spécifique de la structure visée, sans endommager toutes les fibres de passage la traversant. Ainsi, l'injection de NMDA à une dose neurotoxique dans le LA et le BL et d'acide iboténique dans le Ce avant apprentissage empêche l'acquisition de l'apprentissage (Goosens et Maren, 2001). Concernant le Ce, sa lésion par radiofréquence chez le lapin avant conditionnement ne modifie pas la fréquence cardiaque basale mais seulement son augmentation au cours de la séance de rappel ou lors de l'expression d'une peur inconditionnée (Kapp, Frysinger, Gallagher et Haselton, 1979). Amorapanth, LeDoux et Nader (2000) ont mis en évidence que la lésion du Ce n'empêche pas l'acquisition de l'apprentissage ni l'expression d'évitement mais seulement l'expression d'immobilité. A l'inverse, la lésion du BL n'empêche que l'expression d'évitement mais pas celui d'immobilité. Ces deux derniers noyaux semblent donc impliqués dans l'expression plutôt que l'acquisition.

En plus de son rôle dans l'acquisition de nouveaux apprentissages, de nombreuses études ont également montré que le LA joue un rôle dans l'expression et le stockage à long terme de l'apprentissage. Ainsi, Campeau et Davis (1995a) ont montré que la lésion électrolytique du LA plusieurs jours après le conditionnement de peur empêche l'expression de peur conditionnée mesurée par l'amplitude du sursaut de peur dans un conditionnement avec un flash lumineux. Lee, Walker et Davis (1996) et Maren Aharonov, Stote et Fanselow (1996) ont montré que la lésion excitotoxique du BLA même plusieurs semaines après le conditionnement altère l'expression de l'apprentissage. Gale et collaborateurs (2004), quant à eux, ont montré que cela était toujours le cas 16 mois après le conditionnement. Ce déficit de réponse d'immobilité n'est pas du à une modification des comportements moteurs, comme une hyperactivité par exemple. Le rôle du BLA n'est donc pas restreint à l'acquisition. Concernant le Ce, dans un conditionnement avec un flash lumineux comme SC, la lésion électrolytique de ce noyau après le conditionnement empêche l'animal d'exprimer le comportement de peur lors de tests ultérieurs (Campeau et Davis, 1995a ; Hitchcock et Davis, 1986; Kim et Davis, 1993).

L'ensemble de ces données de lésions montre que le BLA semble impliqué dans l'acquisition et l'expression de l'apprentissage alors que le Ce et le BL seraient plus impliqués dans l'expression. L'hypothèse de LeDoux (2000) est donc que le LA est le lieu d'association et de rétention de l'apprentissage, le Ce est le noyau relais de l'amygdale permettant

l'expression du comportement d'immobilité. Néanmoins, Killcross, Robbins et Everitt (1997) ont montré que la lésion du Ce empêche l'acquisition normale de la suppression du comportement d'appui sur un levier qui délivre des chocs électriques. Les auteurs ont donc proposé que les différents aspects d'un apprentissage, selon qu'il soit actif ou passif, sont sous-tendus par différents noyaux de l'amygdale.

Toutefois, l'utilisation de ce genre de lésions irréversibles ne permet pas de dissocier les différentes étapes dans lesquelles un noyau est impliqué (acquisition, consolidation, rappel/expression). L'utilisation de techniques de lésions transitoires se révèle donc nécessaire

3.3.3.3. Approche pharmacologique

La lésion irréversible d'une structure pour étudier son rôle dans un processus cognitif présente deux inconvénients majeurs: 1) elle peut rester sans effet en raison de processus incontrôlés et non maîtrisés de récupération fonctionnelle et 2) son caractère irréversible ne permet pas de tester le comportement du même animal avec et sans l'intégrité de la structure visée. Ainsi, pour pallier à ces inconvénients, l'utilisation de substances pharmacologiques avec une durée de vie limitée et donc un effet transitoire possède de nombreux avantages, notamment celui de laisser la structure intacte et d'étudier précisément son rôle à différentes phases du protocole d'apprentissage (acquisition, consolidation, expression…). Les données suivantes ont montré l'importance de l'amygdale dans l'acquisition (injection avant apprentissage), la consolidation (injection après apprentissage) et l'expression (injection avant le test de rappel) de la mémoire des apprentissages de peur.

Une première approche est l'inactivation complète de la structure par injection d'un anesthésique local. Ainsi, à l'aide de lidocaïne, un bloqueur des canaux sodiques dépendants du voltage, Helmstetter (1992c) a inactivé de façon transitoire le BLA, soit avant la séance d'apprentissage ou soit avant la séance de rappel. Il a montré que ces anesthésies perturbaient la mise en mémoire du conditionnement de peur ainsi que son expression. Une autre approche consiste à injecter du muscimol, un agoniste des récepteurs GABAergiques qui bloque la conductivité électrique d'un neurone. Ainsi, l'inactivation du BLA avant le conditionnement a permis de montrer que ce noyau est impliqué dans l'acquisition de l'apprentissage d'une association son-choc (Maren, Yap et Goosens, 2001; Muller, Corodimas, Fridel et LeDoux, 1997; Wilensky, Schafe et LeDoux, 1999, 2000). L'ensemble de ces données montrent que le BLA est nécessaire à l'acquisition de l'apprentissage.

Concernant le rôle du BLA lors de la consolidation de l'apprentissage de peur conditionnée, son inactivation juste après la séance de conditionnement a donné lieu à des résultats contradictoires selon le protocole utilisé. Une théorie contradictoire à celle des travaux de Joseph LeDoux postule que le BLA n'est pas le lieu où se fait la consolidation de l'apprentissage mais serait la structure qui modulerait la consolidation dans d'autres structures cérébrales (pour revue, voir McGaugh, 2004). Cette théorie est reprise plus en détails au paragraphe 3.3.3.7. Dans la théorie proposée par Joseph LeDoux, le BLA est le lieu d'intenses synthèses protéiques au cours de la consolidation (Schafe et collaborateurs, 2000). L'injection d'inhibiteurs de synthèse protéiques non spécifiques (anisomycine), d'inhibiteurs de la voie des protéines kinases (Schafe et LeDoux, 2000), ou des MAP-kinases (Schafe et collaborateurs, 2000) empêche la consolidation de l'apprentissage. Cependant, l'injection de muscimol dans le BLA lors de la consolidation, qui bloque la transmission synaptique entre ce noyau et d'autres structures sans bloquer la synthèse protéique, n'empêche pas la consolidation de l'apprentissage. Lors du test de rappel, les animaux montrent un comportement de peur intact (Wilensky, Schafe et LeDoux, 1999, 2000). Ces données laissent supposer que la consolidation de l'apprentissage de peur par un conditionnement de Pavlov a bien lieu dans le BLA et pas dans d'autres structures, comme cela peut être le cas pour d'autres apprentissages.

Par ces méthodes pharmacologiques plus spécifiques, il a donc été montré que le BLA semble être impliqué non seulement dans l'acquisition mais également lors de la consolidation de l'apprentissage.

3.3.3.4. Enregistrements unitaires

L'approche électrophysiologique, que ce soit par enregistrement des neurones ou par stimulation des afférences d'une structure donnée permet d'étudier le fonctionnement cérébral chez l'animal anesthésié ou lorsque l'animal vigile réalise une tâche. Il est ainsi possible d'étudier parallèlement plusieurs noyaux amygdaliens avec une acuité temporelle très fine, de l'ordre de la milliseconde.

Ainsi, l'enregistrement de l'activité des neurones du LA au cours de l'apprentissage son-choc a permis de montrer qu'à mesure que l'apprentissage se met en place, on observe une augmentation de la fréquence de décharge en réponse au son chez l'animal vigile (Maren, 2000; Quirk, Repa et LeDoux, 1995 ; Rogan et LeDoux, 1995). Quirk, Repa et LeDoux

(1995) ont par ailleurs montré que l'effet est maximal 15 ms après le son, latence compatible avec une afférence monosynaptique, ce qui conforte l'idée que la voie directe thalamus/LA est une voie importante dans l'apprentissage de peur conditionnée. Par ailleurs, Poremba et Gabriel (2001) chez le lapin, ainsi que Maren, Yap et Goosens (2001) chez le rat, ont montré que cet apprentissage s'accompagne de plasticité dans le thalamus, et que cette plasticité est dépendante de la plasticité induite dans l'amygdale. De plus, l'apprentissage s'accompagne de plasticité dans le cortex auditif mais qui est plus tardive que celle dans le LA (Quirk, Armony et LeDoux, 1997). L'ensemble de ces données montrent que la plasticité dans le LA ne dépend pas de celle dans le thalamus ou du cortex auditif. De plus, le thalamus et le cortex auditif ne sont pas de simple relais de l'information mais sont impliqués dans l'acquisition de l'apprentissage, sous contrôle de l'amygdale.

Goosens, Hobin et Maren (2003) ont démontré que ces modifications du taux de décharge dans l'amygdale sont la cause et non pas la conséquence de l'expression de peur de l'animal. Voyons comment. Dans un protocole de discrimination, les auteurs ont utilisé deux sons différents, l'un associé avec des chocs électriques, et appelé SC+, et l'autre associé à rien et appelé SC-. Comme on peut le supposer, lors du test de rappel, les animaux montrent uniquement une peur au SC+, accompagnée d'une hausse du taux de décharge dans le LA. Cependant, suite à la séance de conditionnement, certains animaux ont été mis dans la cage qui sert pour le test du SC et ont reçu des chocs supplémentaires sans qu'ils soient prédits. Le lendemain, lors du test aux deux sons, ces animaux montrèrent un comportement permanent d'immobilité, induit par ce deuxième contexte. De fait, les auteurs ne purent distinguer de différences comportementales lorsque les deux sons furent présentés à ces animaux. Cependant, au niveau neuronal, il existait toujours une discrimination dans le profil de réponse des neurones du LA. Cela montre qu'il peut y avoir un comportement de peur pour le SC- qui n'est pas accompagné de modifications neuronales dans le LA. La deuxième expérience consista à anesthésier le Ce, noyau principal pour les efférences amygdaliennes. En réponse au SC+, les animaux ne manifestèrent donc pas d'immobilité mais le profil de décharge était toujours modifié dans le LA. Cette deuxième expérience montra qu'il pouvait y avoir modification du profil de décharge sans expression comportementale de peur.

Ces données montrent que l'apprentissage de peur conditionnée au son s'accompagne de modifications dans le profil de décharge des neurones du LA. Ces modifications ne sont pas une conséquence de l'expression de peur mais l'une des causes.

3.3.3.5. Etude de plasticité synaptique

3.3.3.5.1. Mise en évidence

Si l'amygdale est impliquée dans le stockage de la trace de l'apprentissage et que la trace se fait par des processus de PLT, alors l'amygdale devrait posséder toute la machinerie cellulaire nécessaire à la PLT et l'on devrait pouvoir l'induire artificiellement. De plus, on devrait pouvoir détecter des phénomènes de facilitation synaptique naturelle dans l'amygdale suite à l'apprentissage de peur conditionnée. Dans ce paragraphe, nous verrons qu'il est possible d'induire de la PLT dans l'amygdale par différentes approches, sur tranche, sur animal anesthésié et sur animal vigile.

Tout d'abord, sur tranches, il est possible d'obtenir de la PLT dans l'amygdale, notamment dans le LA. Ainsi, la stimulation de la capsule externe par laquelle est véhiculée l'information du cortex auditif vers le LA, entraîne des phénomènes de PLT dans ce noyau (Chapman, Kairiss, Keenan et Brown, 1990; Huang et Kandel, 1998; Watanabe, Ikegaya, Saito et Abe, 1995). Par ailleurs, la stimulation à haute fréquence du cortex ou du thalamus auditif y induit également de la PLT (Huang, Martin et Kandel, 2000; Weisskopf, Bauer et LeDoux, 1999). Cette plasticité dans le LA est, selon les études, dépendante (Huang et Kandel, 1998) ou non des récepteurs NMDA, mais serait dépendant de récepteurs cholinergiques muscariniques (Watanabe, Ikegaya, Saito et Abe, 1995) ou de canaux calcium dépendants du voltage de type L (Shinnick-Gallagher, McKernan, Xie et Zinebi, 2003; Weisskopf, Bauer et LeDoux, 1999). Le type de récepteurs impliqués dans la PLT du LA n'est encore pas défini clairement.

Il est par ailleurs possible d'étudier la PLT sur tranches provenant d'animaux conditionnés et d'étudier les effets du conditionnement sur l'excitabilité de la structure. Ainsi, sur ces animaux, le seuil de déclenchement des courants post-synaptiques excitateurs dans le LA par stimulation électrique de ses afférences (thalamus, cortex auditif ou capsule interne par laquelle est véhiculée l'information du thalamus auditif vers le LA) est abaissé (McKernan et Shinnick-Gallagher, 1997; Tsvetkov, Carlezon, Benes, Kandel et Bolshakov, 2002; Zinebi et collaborateurs, 2003). Cette plasticité impliquerait à la fois des récepteurs NMDA et AMPA (McKernan et Shinnick-Gallagher, 1997), et serait due à une modification du taux de sécrétion de neurotransmetteurs de l'élément présynaptique de la synapse et une modification

postsynaptique des récepteurs NMDA (Tsvetkov, Carlezon, Benes, Kandel et Bolshakov, 2002; Zinebi et collaborateurs, 2003).

Sur l'animal entier anesthésié, la stimulation des afférences de l'amygdale entraîne également des phénomènes de plasticité dans cette structure. Il est ainsi possible de mettre en évidence de la PLT dans le BL par stimulation de la formation hippocampique (Maren et Fanselow, 1995) ou du cortex entorhinal (Yaniv, Schafe, LeDoux et Richter-Levin, 2001). Dans le LA, la plasticité s'observe suite à la stimulation du thalamus auditif (Clugnet et LeDoux, 1990; Yaniv, Schafe, LeDoux et Richter-Levin, 2001). Ces données laissent supposer que le LA, cible du thalamus qui traite des informations unimodales, sert d'interface pour des représentations d'informations relativement simples alors que le BL sert d'interface amygdalienne pour le traitement d'informations de stimuli complexes de par ses connexions à l'hippocampe (Yaniv, Schafe, LeDoux et Richter-Levin, 2001). Ces auteurs en concluent donc que la plasticité résultant du traitement d'informations simples ou complexes implique des noyaux différents.

Enfin, chez l'animal en comportement, la stimulation à haute fréquence du thalamus ou du cortex auditif qui se projettent que le LA induit une PLT dans ce noyau (Doyère, Schafe, Sigurdsson et LeDoux, 2003). Par ailleurs, la mesure des potentiels évoqués sonores naturels dans le LA montre une augmentation de l'amplitude suite au conditionnement (Rogan, Staubli et LeDoux, 1997). Il existe donc la mise en place d'une plasticité naturelle induite par apprentissage dans ce noyau.

L'ensemble de ces données indique qu'il existe dans l'amygdale, et particulièrement dans le LA (Blair, Schafe, Bauer, Rodrigues et LeDoux, 2001), toute la machinerie cellulaire pour permettre des phénomènes de plasticité. Cela conforte l'idée que la PLT est un bon candidat de mécanisme cellulaire sous-tendant les associations entre SC et SI au cours du conditionnement de peur (Martin, Grimwood et Morris, 2000; Martin et Morris, 2002).

3.3.3.5.2. Approche pharmacologique de la plasticité synaptique

Pour confirmer l'idée que la PLT ait un rôle fonctionnel dans la mise en mémoire d'une information, l'application de substances empêchant sa mise en place devrait empêcher l'apprentissage. D'après les théories actuelles, les récepteurs NMDA joue un rôle primordial dans la plasticité synaptique (pour revue, voir Maren, 1999b). Ainsi, l'injection d'acide

aminophosphonovalérique un antagoniste compétitif des récepteurs NMDA bloque l'acquisition et l'expression de l'apprentissage. Ces données montrent donc que ces récepteurs jouent un rôle fonctionnel au moment de l'acquisition (Bauer, Schafe et LeDoux, 2002; Goosens et Maren, 2003; Lee et Kim, 1998; Miserendino, Sananes, Melia et Davis, 1990) et de l'expression de l'apprentissage de peur conditionnée (Fendt, 2001; Lee, Choi, Brown et Kim, 2001; Lee et Kim, 1998; Lindquist et Brown, 2004). Par ailleurs, les récepteurs NMDA ne seraient pas les seuls types de récepteurs impliqués dans l'apprentissage de peur conditionnée. Ainsi, comme cela a été proposé sur tranches (Weisskopf, Bauer et LeDoux, 1999), les canaux calcium dépendants du voltage de type L semblent également être de bons candidats. A l'aide d'injections d'antagonistes spécifiques, Bauer, Schafe et LeDoux (2002) ont mis en évidence la coexistence de l'implication des récepteurs NMDA et des canaux calcium dépendants du voltage de type L dans l'acquisition de l'apprentissage. Ce dernier type de récepteurs serait également impliqués dans l'expression (Shinnick-Gallagher, McKernan, Xie et Zinebi, 2003) et l'extinction (Cain, Blouin et Barad, 2002; Cain, Godsil, Jami et Barad, 2005) de l'apprentissage. Toutefois, l'implication des canaux calcium dépendants du voltage de type L aux différents moments de l'apprentissage est encore sujet à débat puisque selon les études, l'importance constatée n'est pas la même. Par exemple, Cain, Blouin et Barad (2002) ne montrent pas de conséquences de l'injection d'antagoniste de ce récepteur lors de l'acquisition et l'expression mais seulement lors de l'extinction.

L'activation des récepteurs NMDA dans l'amygdale au cours du conditionnement n'est que la première étape de la mise en place de PLT (pour revue, voir Maren, 2001, 2005; Rosen 2004). Cette activation permettrait l'entrée de calcium, ce qui déclencherait alors des cascades de réactions biochimiques (pour revue, voir Martin, Grimwood et Morris, 2000). De nombreuses études ont mis en évidence que la consolidation de la peur conditionnée s'accompagne de phosphorylation de différentes kinases et d'un facteur de transcription qui permet la synthèse protéique, *l'élément protéique de liaison à l'AMP cyclique* ou CREB (de l'acronyme anglais *cyclic AMP response element binding protein*) (Atkins, Selcher, Pertaitis, Trzaskos et Sweatt, 1998; Schafe et collaborateurs, 2000). Cette cascade de réactions dans l'amygdale aurait pour rôle de consolider la mémoire nouvellement formée et de la stocker en mémoire à long terme, via la synthèse de nombreuses protéines. Chacune des différentes étapes est nécessaire à la consolidation normale puisque l'inhibition de chacune des différentes kinases de la chaîne, avant ou peu après le conditionnement, perturbe l'acquisition normale de l'apprentissage et son stockage à long-terme, sans affecter la mémoire à court terme, non dépendante de synthèses protéiques (Goosens, Holt et Maren, 2000; Lin et

collaborateurs, 2001; Rodrigues, Schafe et LeDoux, 2004; Schafe et collaborateurs, 2000; Schafe et LeDoux, 2000). Ainsi, l'injection d'inhibiteurs de synthèse de protéines dans l'amygdale peu après un conditionnement, empêche la rétention à long-terme de l'apprentissage (Maren, Ferrario, Corcoran, Desmond et Frey, 2003; Nader, Schafe et LeDoux, 2000; Schafe et LeDoux, 2000).

L'ensemble de ces données montre *in vitro* et *in vivo* que le LA est le lieu de plasticité soit induite artificiellement, soit observée suite à l'apprentissage de peur conditionnée et que cette plasticité est impliquée dans différentes phases de l'apprentissage.

3.3.3.6. Bilan de l'implication de l'amygdale dans l'apprentissage de peur conditionnée

De l'ensemble de ces données, il ressort que l'amygdale est une structure centrale dans l'acquisition, la consolidation, le stockage et le rappel de l'apprentissage de peur conditionnée. Cependant, il existe encore un débat aujourd'hui sur le rôle et l'importance fonctionnelle exacte des différents noyaux qui la composent. On peut donc tirer de la littérature deux grands modèles de fonctionnement de l'amygdale au cours du conditionnement de peur à l'odeur, le modèle que l'on pourrait qualifier de *modèle d'unicité de l'amygdale* qui considère que seul le LA est un noyau clé dans l'apprentissage SC-SI et celui que j'appellerai *modèle de dualité de l'amygdale* qui propose, au contraire, que deux noyaux soient importants, le LA et le Ce, qui sont des sites de plasticité, reliés via des neurones intercalés inhibiteurs.

3.3.3.6.1. Modèle d'*unicité de l'amygdale*: primauté du noyau latéral et rôle simple de relais du noyau central

Ce modèle classique accorde une importance primordiale au LA, qui serait le site amygdalien où se ferait la plasticité synaptique qui contribue à l'apprentissage de peur conditionnée. La convergence spatiale (anatomique) et temporelle lors d'un conditionnement du SC et du SI entraînerait une PLT, via l'activation des récepteurs NMDA dans les synapses de traitement du SC. Par la suite, la simple présentation du SC seul entraîne une plus grande réponse des neurones du LA qui se projettent alors directement sur le Ce, principale source d'efférences de l'amygdale sur, entre autre, la substance grise périaqueducale, le tronc cérébral et l'hypothalamus. Ces structures permettent l'expression des différents aspects de la peur.

Dans ce modèle, le Ce est donc vu comme une structure passive de transmission de l'information apprise et stockée dans le LA (voir Figure 3.7).

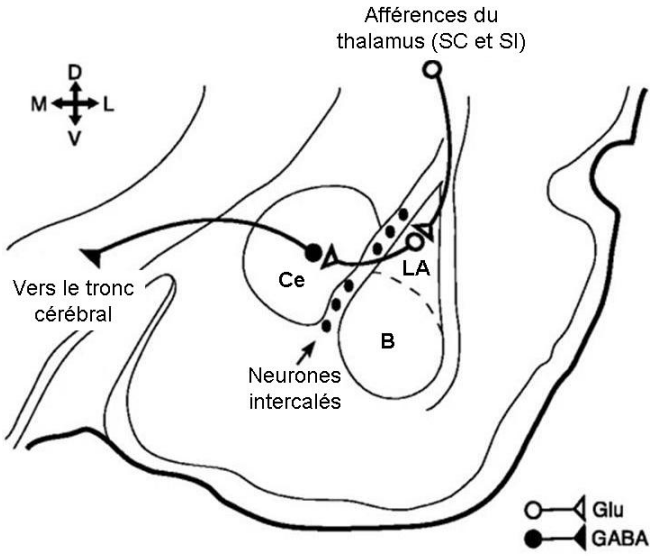


Figure 3.7 Modèle d'unicité de l'amygdale de LeDoux et collaborateurs (Schéma d'après Paré et collaborateurs, 2004)

B: Noyau basal de l'amygdale ; Ce: Noyau central de l'amygdale ; GABA: Acide γ-amino-butyrique ; Glu: Glutamate ; LA: Noyau latéral de l'amygdale ; SC, SI: Stimulus conditionnel et inconditionnel

3.3.3.6.2. Modèle de *dualité de l'amygdale*: noyaux central et latéral et neurones intercalés

Cependant, certains auteurs proposent que le LA ne soit pas le seul impliqué dans l'acquisition du conditionnement de peur et qu'il existe des neurones relais entre le LA et le Ce.

Ainsi, le Ce, loin de n'être qu'une structure relais du LA, serait également un site important de plasticité (Paré, Quirk et LeDoux, 2004). En effet, d'après ce modèle, il recevrait des afférences directes du thalamus auditif (Linke, Braune et Schwegler, 2000; Turner et Herkenham, 1991) et des afférences nociceptives directes (Bernard, Bester et Besson, 1996; Bernard et Besson, 1990; Neugebauer et Li, 2003). Des études de lésion (Killcross, Robbins et Everitt, 1997), ou d'injections de substances pharmacologiques (Goosens et Maren, 2003; Wilensky, Schafe et LeDoux, 2000) ont montré l'implication du Ce dans l'acquisition du conditionnement de peur.

Par ailleurs, selon ce modèle, le LA se projette sur le Ce latéral qui ne se projette que peu sur le tronc cérébral (Pitkanen et collaborateurs, 1995) alors que le Ce médian se projetterait sur le tronc cérébral (Liubashina, Jolkkonen et Pitkanen, 2000) et sur la substance grise périaqueducale (pour revue, voir Paré, Quirk et LeDoux, 2004). Le LA se projetterait donc sur le Ce médian via les masses cellulaires intercalées qui sont des paquets de neurones

entre le BLA et le Ce. Les masses cellulaires intercalées, chez le chat, recevraient des afférences glutamatergiques du BLA et inhiberaient le Ce via des synapses inhibitrices GABAergiques (Paré et Smith, 1993; Royer, Martina et Paré, 1999). Royer, Martina et Paré (1999) ont donc émis l'hypothèse d'un deuxième niveau de cellules, activées par le BLA et qui inhiberaient à leur tour les masses cellulaires intercalées qui inhibent le Ce. Ainsi, si cette desinhibition se produit au moment où les chocs électriques activent directement le Ce, alors une plasticité se ferait également dans ce noyau. La PLT dans le LA permettrait celle dans le Ce. L'originalité de ce modèle est de proposer la notion de sites d'association et d'acquisition distribués dans l'amygdale (voir Figure 3.8).

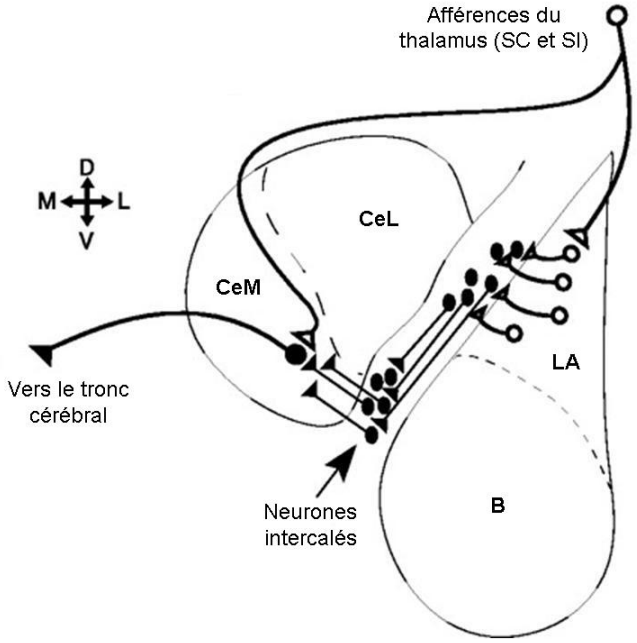


Figure 3.8 Modèle de multiplicité de l'amygdale (Schéma d'après Paré et collaborateurs, 2004)
B: Noyau basal de l'amygdale ; CeL, CeM: Noyau central de l'amygdale, partie latérale et médiane ; LA: Noyau latéral de l'amygdale ; SC, SI: Stimulus conditionnel et inconditionnel

3.3.3.7. Est-ce que l'amygdale est le lieu de stockage à long terme de l'association? Hypothèse contradictoire

Dans l'étude des mécanismes neurobiologiques sous-tendant les apprentissages émotionnels, une théorie alternative à celle que l'on pourrait qualifier de *théorie LeDoux* est la *théorie McGaugh*. Pour Joseph LeDoux et ses collaborateurs, qui utilise le conditionnement pavlovien d'association odeur-chocs, le BLA, et plus particulièrement le LA, est le site où se fait cette association entre le SC et le SI, la consolidation de cet apprentissage et le stockage à long-terme. En d'autres mots, le LA est la structure centrale, le pilier de l'édifice de

l'acquisition et de la consolidation de l'apprentissage de peur conditionnée par la méthode de Pavlov.

La *théorie McGaugh* repose sur l'utilisation d'un paradigme d'apprentissage différent, la tâche *d'évitement passif*. Dans cet apprentissage, le rat est placé dans un compartiment éclairé avec un orifice permettant de passer dans un compartiment sombre. Comme les rats sont naturellement attirés par les endroits sombres, ils s'y réfugient rapidement. Cependant, ce compartiment est électrifié et l'animal reçoit un choc aux pattes quand il y pénètre. Par la suite, lors du test de rétention, l'expérimentateur va replacer l'animal dans le compartiment éclairé et mesurer la latence mise par l'animal pour retourner dans le compartiment sombre. Si l'animal a correctement appris l'association entre le compartiment et le choc, la latence suite à laquelle le rat y pénètre de nouveau augmente. Dans la *théorie McGaugh*, l'amygdale n'est pas le lieu de stockage définitif de l'apprentissage mais est la structure par laquelle se font les interactions neuromodulatrices au cours de l'apprentissage de peur.

Plusieurs points viennent appuyer cette théorie:

- d'abord, il est possible d'avoir une rétention d'un apprentissage d'évitement passif malgré la lésion du BLA une semaine après l'apprentissage (Parent, Quirarte, Cahill et McGaugh, 1995),

- de plus, l'apprentissage de peur est corrélé à une sécrétion de noradrénaline dans le BLA (McIntyre, Hatfield et McGaugh, 2002). Par ailleurs, l'injection de ce neurotransmetteur après la séance d'acquisition au cours de la consolidation augmente la rétention de la mémoire (LaLumière, Buen et McGaugh, 2003). L'injection d'un agoniste au moment de la consolidation augmente l'expression de peur conditionnée au moment du rappel alors que l'inactivation à l'aide de lidocaïne entraîne un déficit (Vazdarjanova et McGaugh, 1999). Cependant, cet effet facilitateur dans le BLA au moment de la consolidation est annulé par la lésion de plusieurs structures, par exemple, le noyau basal magnocellulaire (Power, Thal et McGaugh, 2002) ou le BNST (Liang, McGaugh et Yao, 1990). Ces données montrent que l'effet facilitateur de la noradrénaline dans le BLA sur la mémorisation pourrait être du à ses projections sur d'autres structures,

- ensuite, il a été montré que le BLA joue un rôle modulateur dans de nombreux autres types d'apprentissages. L'injection de substances pharmacologiques, essentiellement des agonistes et antagonistes noradrénergiques, perturbe ou améliore les performances mnésiques dans de nombreux autres types d'apprentissage (labyrinthe en Y, apprentissage appétitif dans un labyrinthe radial, changement de l'amplitude des récompenses, apprentissage spatial dans

la piscine de Morris, aversions gustative conditionnée, extinction…, pour revue, voir McGaugh, 2004).

L'hypothèse est donc que la consolidation de la mémoire n'a pas lieu dans le BLA. Le rôle du BLA serait de moduler la consolidation de la mémoire dans d'autres structures cérébrales. De fait, cette structure ne serait pas le lieu définitif où la trace est conservée (pour revue, voir McGaugh, 2004; McGaugh, Cahill et Roozendaal, 1996; McGaugh, McIntyre et Power, 2002; McGaugh et Roozendaal, 2002).

Comme les deux groupes de recherche utilisaient chacun leur "tâche de prédilection", pour tenter de clore le débat, LeDoux et ses collaborateurs ont comparé les effets d'une inactivation dans les deux types d'apprentissage (Wilensky Schafe et LeDoux, 1999, 2000). Ces inactivations transitoires au muscimol ont été faite après la séance d'acquisition, lorsque le BLA est supposé exercer son action modulatrice selon la théorie McGaugh. Cette inactivation empêche l'effet modulateur éventuel de cette structure. Ils ont mis en évidence que l'apprentissage de peur conditionnée n'est perturbé que dans le cas de l'apprentissage d'évitement passif, pas dans le conditionnement pavlovien. Par ailleurs, l'inhibition des voies de synthèse protéique dans le BLA lors de la consolidation perturbe l'apprentissage de type pavlovien (Schafe et collaborateurs, 2000; Schafe et LeDoux, 2000). La *théorie LeDoux* postule donc que le BLA serait le lieu de stockage définitif de la trace de l'apprentissage dans le cas très restreint du conditionnement pavlovien de peur.

Pour résumer, la première hypothèse postule que le BLA aurait un rôle général de neuromodulation dans différents types d'apprentissages, y compris dans l'apprentissage pavlovien (*théorie McGaugh*). Le point de vue alternatif est que le conditionnement pavlovien de peur ferait exception à cette théorie (*théorie LeDoux*). Cette question est toujours l'objet de vifs débats.

3.3.4. … impliquée dans un réseau

La notion de réseau de structures impliquées dans la mémoire fait aujourd'hui consensus au sein de la communauté scientifique. Ainsi, il n'est pas surprenant que l'amygdale, pour importante qu'elle soit, ne soit pas la seule structure impliquée dans cet apprentissage.

3.3.4.1. Structures auditives

L'apprentissage de peur conditionnée à un SC sonore entraîne une plasticité dans les voies d'afférences auditives du LA: ainsi, dans le cortex auditif, la représentation neuronale d'un SC est modifiée suite à l'apprentissage. La même observation est faite dans le noyau géniculé du thalamus, c'est-à-dire le thalamus auditif (pour revue, voir Edeline, 1999). Dans une étude de lésion, Campeau et Davis (1995b) ont montré que la lésion totale du thalamus auditif ou des divisions projetant directement ou non sur le LA, avant ou après le conditionnement de peur au son, entraîne des déficits de réactions conditionnées de peur au cours du test de rappel mais n'a aucun effet sur le conditionnement visuel. Par ailleurs, Quirk, Armony et LeDoux (1997) ont montré une plasticité dépendante de l'apprentissage dans le cortex auditif, qui apparaît après un plus grand nombre d'essais que dans l'amygdale. Les auteurs proposent donc que cette plasticité tardive reflète l'implication de ce cortex dans les processus cognitifs, mémoire et attention notamment.

Ainsi, il apparaît donc que dès les premiers étages de traitement de l'information sensorielle, ici au niveau du thalamus et du cortex auditif, des modifications de la représentation du SC suite à l'apprentissage ont lieu. Ces structures, notamment le thalamus auditif, ne sont donc pas de simples relais passifs.

3.3.4.2. Cortex périrhinal

Dans un protocole utilisant un SC visuel, Rosen et collaborateurs (1992) ont montré que la lésion du cortex périrhinal ventral, qui reçoit des afférences du cortex visuel et se projette sur l'amygdale, empêche l'acquisition du conditionnement de peur visuel. Dans cette même étude, les lésions de la partie dorsale du cortex périrhinal, des cortex frontal, préfrontal, insulaire et visuel restent sans effet. Les auteurs proposent donc certaines structures qui se projettent sur l'amygdale jouent un rôle dans la mémorisation de cet apprentissage. Dans une expérience similaire, Campeau et Davis (1995b) ont montré que la lésion de la totalité du cortex périrhinal suite à un conditionnement auditif ou visuel entraîne un déficit d'expression de peur en réponse aux deux stimuli, la lésion du cortex périrhinal antérieur seul reste sans effets. Cependant, Romanski et LeDoux (1992a; 1992b) ont montré une absence d'effet de la lésion des structures corticales, notamment le cortex périrhinal.

Cette structure ayant peu été décrite, des études supplémentaires sont donc nécessaires pour connaître précisément son rôle précis.

3.3.4.3. Cortex frontal

Concernant le cortex frontal, l'accumulation de données semble indiquer que le CPF médian, joue un rôle dans le conditionnement de peur, essentiellement lors des phases d'extinction de l'apprentissage, c'est-à-dire quand le SC est présenté seul, sans être renforcé par le SI (pour revue, voir Garcia, 2002 ; Quirk, Garcia et Gonzalez-Lima, 2006; Sotres-Bayon, Bush et LeDoux, 2004).

En situation basale, le CPF inhibe le BLA via l'activation d'interneurones inhibiteurs (Rosenkranz et Grace, 2002a, 2002b; revue dans Grace et Rosenkranz, 2002). En revanche, lors d'une association entre un son et des chocs aux pattes, le BLA va alors inhiber le CPF (Baeg et collaborateurs, 2001; Garcia, Vouimba, Baudry et Thompson, 1999), via l'activation d'interneurones inhibiteurs (Baeg et collaborateurs, 2001). Cette inhibition est également concomitante d'une sécrétion de dopamine par le système mésolimbique dans le BLA. Les récepteurs dopaminergiques D_2 potentialisent les afférences du SC (revue dans Grace et Rosenkranz, 2002) alors que les récepteurs D1 inhibent la propension qu'a le CPF à inhiber le BLA (Rosenkranz et Grace, 2002b). En résumé, la dopamine sécrétée au cours de l'association permet une plus forte activation et une plus faible inhibition du BLA.

Lors des phases d'extinction, le SC va perdre de son caractère prédictif de l'arrivée de chocs électriques aux pattes. Il a été montré que la lésion de la partie dorsale du CPF médian retarde (Morgan et LeDoux, 1995) et ou empêche l'extinction de l'apprentissage (Vouimba, Garcia, Baudry et Thompson, 2000). Le CPF médian aurait donc un rôle dans l'encodage du degré de prédictibilité d'un SI par un SC auditif (Garcia, Vouimba, Baudry et Thompson, 1999; Herry, Vouimba et Garcia, 1999) et serait capable, lorsque le SC a perdu de son caractère prédictif au cours de la phase d'extinction, de moduler les réponses de peur inadaptées via ses connexions à l'amygdale (Vouimba, Garcia, Baudry et Thompson, 2000). Au cours de la phase d'extinction, les premières présentations du SC, qui entraînent un comportement de peur chez l'animal, sont corrélées à une dépression à long-terme dans le CPF médian. Suite à plusieurs présentations sans renforcements du SC, le comportement de peur diminue, et parallèlement, la dépression à long terme disparaît en même temps que se

mettent en place des phénomènes de PLT (Herry et Garcia, 2002). La mise en place de PLT dans le CPF médian serait donc impliquée dans le maintien de l'extinction car si la dépression à long-terme est maintenue dans cette phase, artificiellement (stimulation électrique à basse fréquence du noyau thalamique médiodorsal) ou naturellement (pas de mise en place de PLT naturelle), l'animal ne parvient pas à éteindre un comportement de peur pourtant devenu inadapté à la situation (Herry et Garcia, 2002). Ces données laissent à penser que le CPF médian, par son rôle dans la représentation du degré de prédictibilité du SC, est impliqué dans le traitement cognitif de l'extinction de la peur conditionnée (Herry, Vouimba et Garcia, 1999). Les travaux de René Garcia et de ses collaborateurs ont permis d'émettre l'idée que le CPF médian serait impliqué dans le maintien et pas dans l'acquisition de l'extinction (Herry et Garcia, 2002, 2003; Herry, Vouimba et Garcia, 1999, pour revue, voir Garcia, 2002).

Cependant, des études récentes montrent que, dans certaines conditions expérimentales de lésions, il existe des voies indépendantes du CPF médian pour permettre la rétention de l'extinction, qu'il reste à définir. En effet, les lésions du CPF médian seules ou combinées avec une lésion du cortex moteur, du septum dorsal ou du thalamus médiodorsal n'empêchent pas l'acquisition et l'expression de l'extinction de peur conditionnée au son (Farinelli, Deschaux, Hugues, Thévenet et Garcia, 2006; Garcia, Chang et Maren, 2006). Ainsi, le rôle exact du CPF médian dans l'extinction de peur conditionnée est relancé et reste à définir.

3.3.4.4. Autres structures

Récemment, Poulos et Fanselow (2005) ont montré que dans le cas particulier de surapprentissage (soixante-quinze appariements entre un son et un choc), la lésion du BLA 'avait qu'un effet minime sur l'acquisition de la peur conditionnée au SC A l'inverse, la lésion du BNST avait un effet bien plus fortement délétère.

Il apparaît donc que dans certains cas, la mise en place de circuits indépendants de l'amygdale permette de compenser l'absence d'amygdale et d'acquérir une peur conditionnée au son. Ce point précis sera repris plus en détails dans la discussion (Chapitre 6).

L'ensemble de ces expériences montre donc que si l'amygdale est une structure clé du conditionnement de peur, elle est néanmoins impliquée dans un réseau comprenant un grand nombre de structures cérébrales.

3.4. Le conditionnement de peur au contexte: importance de l'hippocampe

Au cours d'un conditionnement de peur, le rat apprend non seulement à associer le SC avec les chocs électriques aux pattes mais également à associer aux chocs le contexte dans lequel a eu lieu ce conditionnement. Ainsi, si l'animal est replacé dans la même cage après le conditionnement, il montrera des comportements de peur à ce contexte. Le réseau cérébral sous-tendant ce type d'apprentissage implique des structures différentes de celles impliquées dans l'apprentissage de peur au son.

3.4.1. L'hippocampe, une structure majeure

L'acquisition d'une peur conditionnée au contexte relèverait de l'apprentissage spatial d'une part, c'est-à-dire la capacité de mémoriser l'emplacement des différents indices contextuels, et de l'apprentissage configural, c'est-à-dire la capacité à lier entre eux des éléments disparates d'un contexte pour en avoir une perception unifiée (Sutherland et Rudy, 1989; Nadel et Willner, 1980). Fanselow (1986; 1990) a montré qu'un animal n'apprenait pas le contexte de conditionnement s'il recevait des chocs immédiatement après avoir été placé dans la cage, c'est-à-dire sans avoir eu le temps nécessaire pour associer entre eux les différents éléments qui forment ce contexte. En revanche, Barbelivien et collaborateurs (2006) ont montré que des animaux élevés dans des environnements enrichis (à l'aide de tunnels, roues, chaînes, jouets, échelles…) montrent une augmentation des capacités à apprendre le contexte de conditionnement qui arrive à diminuer les capacités d'apprentissage du SC sonore. L'enrichissement de leur environnement de vie leur permet d'améliorer leurs capacités d'analyse des indices contextuels.

Il a été montré que l'hippocampe est la structure la plus appropriée pour sous-tendre l'apprentissage de peur au contexte. Ainsi, plusieurs études ont montré que la lésion de l'hippocampe dorsal entraînait une amnésie rétrograde (pour revue, voir Anagnostaras, Gale et Fanselow, 2001; Holland et Bouton, 1999). La lésion de cette structure peu de temps après le conditionnement (un jour pour Kim et Fanselow (1992) et Anagnostaras, Maren et Fanselow (1999), un à vingt-huit jours pour Maren, Aharonov et Fanselow (1997)), entraîne un sévère

déficit rétrograde. En revanche, la même lésion faite à des délais plus longs, c'est-à-dire portant sur une mémoire plus ancienne et donc plus consolidée (vingt-huit jours pour Kim et Fanselow (1992), cent jours pour Maren, Aharonov et Fanselow (1997) ou cinquante jours pour Anagnostaras, Maren et Fanselow (1999)), est sans effet sur l'expression de peur conditionnée au contexte. Ces résultats, en accord avec ceux de Maviel, Durkin, Menzaghi et Bontempi (1997) qui montrent un désengagement de l'hippocampe au cours du temps, dans une tâche d'apprentissage spatial chez la souris, corroborent ceux chez l'homme concernant l'implication de cette structure dans la mémoire (Squire et Alvarez, 1995). Plus précisément, l'hippocampe serait primordial dans la consolidation d'une mémoire récente, ce qui expliquerait les effets délétères de sa lésion peu de temps après l'apprentissage. En revanche, les mémoires anciennes et bien consolidées seraient devenus indépendantes de l'hippocampe, ce qui expliquerait que la lésion de l'hippocampe reste sans effet sur l'expression de ces apprentissages anciens. Dans le cas particulier du conditionnement de peur, le premier rôle de l'hippocampe serait de consolider la représentation spatiale du contexte dans les aires corticales (Maren, Anagnostaras et Fanselow, 1998, Young, Bohenek et Fanselow 1994).

En plus d'entraîner une amnésie rétrograde, certains auteurs ont noté que la lésion de l'hippocampe induisait également une amnésie antérograde, c'est-à-dire une incapacité à acquérir de nouveaux apprentissages. Ainsi, à l'aide de lésions de l'hippocampe avant le conditionnement, de nombreuses études ont montré que les rats manifestaient des déficits d'apprentissage du contexte (Kim, Rison et Fanselow, 1993; Maren et Fanselow, 1997; Phillips et Ledoux, 1992; Young, Bohenek et Fanselow 1994). Par une autre approche, Rudy (1993) a fait le même constat. Il a mentionné que l'association unique entre un son et un choc dans un contexte nouveau entraîne un apprentissage à la fois du stimulus conditionnel et du contexte de conditionnement chez de jeunes rats âgés de vingt-sept jours. En revanche, de plus jeunes ratons de dix-huit jours, chez qui l'hippocampe est immature, qui subissent le même conditionnement apprennent bien à associer le SC au choc mais montrent un déficit d'apprentissage du contexte. Dans une étude électrophysiologique effectuée sur des souris vigiles, Desmedt, Garcia et Jaffard (1998) ont montré que l'apprentissage de peur au contexte s'accompagne de plasticité synaptique dans l'axe hippocampe/septum. Cette série de résultats montre que l'hippocampe semble être nécessaire à l'acquisition d'un apprentissage contextuel dans le conditionnement de peur.

A l'inverse, de nombreuses études ont montré que l'absence de l'hippocampe est sans effet sur l'apprentissage de peur au contexte chez ces animaux. Ainsi, Maren, Aharonov et Fanselow (1997) ont montré que la lésion après apprentissage entraîne une amnésie rétrograde

mais que la même lésion une semaine avant cet apprentissage n'empêche aucunement les animaux d'apprendre à associer le contexte de conditionnement aux chocs électriques. De même, Phillips et LeDoux (1994) ont testé les effets de la lésion de l'hippocampe dorsal dans trois conditions: la première où le SC et le SI sont appariés, la deuxième où ils ne le sont pas et la troisième où les animaux ne reçoivent que des chocs sans SC. Ces deux auteurs ont montré que cette lésion n'a d'effets que sur l'apprentissage en condition appariée, c'est-à-dire quand le contexte est un élément en *arrière plan* du SC. La lésion de l'hippocampe dorsal reste sans effet lorsque le contexte est l'élément saillant, c'est-à-dire lorsque les stimuli conditionnel et inconditionnel ne sont pas appariés ou lorsque les chocs électriques sont donnés seuls. Frankland, Cestari, Filipkowski, McDonald et Silva (1998) ont montré que la lésion de cette structure n'empêche aucunement l'apprentissage contextuel mais entraîne des problèmes de discrimination de contextes chez les animaux lésés. Ces résultats corroborent ceux de Cho, Friedman et Silva (1999) qui montrent un effet de cette lésion uniquement sur les apprentissages spatiaux, pas sur le conditionnement de peur. Cette deuxième série de résultats va à l'encontre des premiers et laisse supposer que l'hippocampe n'est pas indispensable dans l'apprentissage des indices contextuels lors d'un conditionnement de peur.

Pour expliquer la disparité de ces résultats, Anagnostaras, Gale et Fanselow (2001) proposent que pour apprendre un contexte, deux stratégies sont offertes à l'animal:

- d'abord, celle que les auteurs appellent la *solution représentationnelle unifiée* (voir Figure 3.9 A). Dans ce cas, les élément du contexte (forme et couleur de la cage, texture du sol et des parois, indices visuels divers…) sont unifiés et représentés comme un tout grâce à l'hippocampe. Lors du conditionnement, le son qui est présenté à chaque arrivée de chocs électriques est fortement associé à eux et devient donc un bon indice pour l'animal. Par ailleurs, le contexte, traité comme un tout, est également fortement associé au stimulus inconditionnel. Lors du test de rétention, les animaux montreront un comportement de peur conditionnée à la fois au SC mais aussi au contexte. La lésion de l'hippocampe peu de temps après le conditionnement, alors que la mémoire n'est pas consolidée et n'est pas devenue indépendante de l'hippocampe, détruit la représentation unifiée du contexte qu'a l'animal. Ainsi, lors du test de rétention du contexte, il ne manifestera plus de peur conditionnée,

- la deuxième est la *solution élémentaire* (voir Figure 3.9B). Dans le cas où l'hippocampe est lésé, le SC va continuer à être fortement associé aux chocs électriques et entraînera donc un fort comportement de peur conditionnée. En revanche, l'absence d'hippocampe empêche d'unifier les indices contextuels en un tout. Chacun de ces éléments contextuels disparates est traité indépendamment par l'animal et sera donc faiblement associé

aux chocs électriques lors du conditionnement, sans nécessiter l'hippocampe. Ainsi, selon la saillance des éléments contextuels individuels au moment de l'acquisition et donc la force avec laquelle ils pourront être associés aux chocs électriques, leur représentation lors du test de rétention sera ou non suffisante pour entraîner une réaction de peur conditionnée chez l'animal. Ce dernier point explique que selon les études, l'hippocampe soit ou non délétère sur l'acquisition de l'apprentissage.

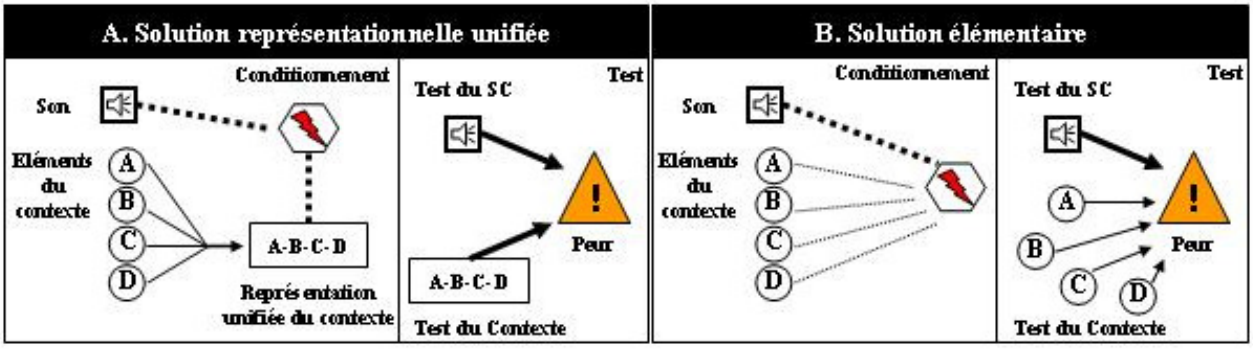


Figure 3.9 Schéma des deux hypothèses d'apprentissage possibles du contexte (d'après Anagnostaras et collaborateurs, 2001)

3.4.2. Rôle de l'amygdale

Si l'hippocampe semble être la structure où se forme la représentation unifiée des différents éléments disparates d'un même contexte, l'amygdale, et particulièrement le BLA, semble avoir un rôle primordial dans l'expression de cet apprentissage. En effet, plusieurs études ont montré que la lésion de cette structure empêche l'acquisition normale de la peur conditionnée à la fois au contexte et au SC alors que la lésion de l'hippocampe seul n'altère que l'apprentissage du contexte (Maren, Aharonov et Fanselow, 1996; Maren et Fanselow, 1995; Phillips et LeDoux, 1992). Ainsi, Wallace et Rosen (2001) ont montré que les cellules du LA et de l'aire de transition amygdalo-striatale sont impliquées dans l'acquisition de l'apprentissage de peur conditionnée au contexte tandis que les fibres de passage traversant ces deux structures sont impliquées dans l'expression comportementale de cette peur conditionnée. De même, Cousens et Otto (1998) ont également montré que la lésion du BLA avant ou après conditionnement altère l'acquisition et l'expression de peur conditionnée au contexte de conditionnement. Par ailleurs, l'inactivation de l'amygdale avant le conditionnement ou le test de rappel à l'aide de muscimol, un agoniste GABAergique, altère fortement la réponse de peur conditionnée au contexte (Helmstetter et Bellgowan, 1994). En

2001, Goosens et Maren ont montré que des animaux ayant subi une lésion excitotoxique du LA, du BL ou du Ce montrent des déficits lors de l'expression de l'apprentissage. Ces données corroborent celles de Muller, Corodimas, Fridel, LeDoux. (1997) qui ont montré que l'inactivation au muscimol du LA et du BL avant l'acquisition ou l'expression de peur conditionnée au contexte entraînait une baisse de performances chez les animaux. De plus, Maren (1998) a également montré que léser le BLA, y compris dans un protocole de surapprentissage, est délétère dans l'apprentissage du contexte. Le blocage pharmacologique de cette structure à l'aide d'acide aminophosphonovalérique, un antagoniste des récepteurs NMDA, entraîne lui aussi des déficits d'apprentissage (Fanselow et Kim, 1994; Maren, Aharonov, Stote et Fanselow, 1996). L'ensemble de ces données indique que l'amygdale joue un rôle indispensable dans l'acquisition et l'expression normales d'une peur conditionnée au contexte dans lequel s'effectue le conditionnement.

Par ailleurs, Canteras et Swanson (1992) ont montré qu'une grosse part des afférences du BLA provient de la formation hippocampique (pour revue, voir Maren, 2001; LeDoux, 2000; Phelps et LeDoux, 2005). Ainsi, du fait de ces remarques anatomiques, Maren et Fanselow (1995) ont étudié la réponse électrophysiologique évoquée par une stimulation des efférences de la formation hippocampique dans le BLA. Ils ont ainsi montré que les projections de la formation hippocampique sur le BLA sont primordiales dans l'acquisition normale d'une peur conditionnée au contexte. L'ensemble de ces données laisse supposer que si l'hippocampe joue un rôle important dans l'unification des éléments du contexte, le BLA aurait un rôle dans l'association entre cette représentation et le SI: elle serait donc un relais pour traiter l'information contextuelle unifiée dans l'hippocampe et l'associer à ce SI (Maren, Aharonov et Fanselow, 1996; Phillips et LeDoux, 1992). Selon LeDoux (2000), les noyaux amygdalien qui sous-tendrait cette association ne serait pas le LA mais le BL et le AB, via leur projections sur le Ce. Ces données sont corroborées par le fait que la projection majoritaire de l'hippocampe sur l'amygdale se fait au niveau du BL (Sah, Faber, Lopez de Armantia et Power, 2003; Canteras et Swanson, 1992) et que la lésion du AB serait délétère pour l'apprentissage contextuel mais pas pour l'apprentissage du SC (Majidishad et collaborateurs, 1996, cité dans LeDoux, 2000). Une étude récente de Huff et collaborateurs (2006) a montré que, en plus d'avoir un rôle dans l'association Contexte-SI, l'amygdale module également la consolidation de l'apprentissage par régulation de l'expression de gènes précoces dans l'hippocampe.

Ainsi, pour conclure sur l'apprentissage de peur au contexte, les voies cérébrales qui le sous-tendent ne sont pas les mêmes que celles mises en évidence dans l'apprentissage de peur au SC, bien que là encore, le BLA y joue un rôle primordial.

3.4.3. Autres structures

Plusieurs autres structures sont impliquées dans cet apprentissage. Concernant les structures corticales, d'un point de vue anatomique, la majorité des afférences des informations sensorielles dans l'hippocampe se fait via les structures parahippocampiques, c'est-à-dire le cortex entorhinal, le cortex postrhinal et le cortex périrhinal (Scharfmann, Witter et Schwarcz, 2000). Il n'est donc guère surprenant que ces structures cérébrales fortement interconnectées avec l'hippocampe jouent un rôle dans l'apprentissage de la peur conditionnée au contexte. Ainsi, Bucci, Phillips et Burwell (2000) et Corodimas et LeDoux (1995) ont montré que la lésion électrolytique ou neurotoxique des cortex périrhinal ou du cortex postrhinal entraîne une amnésie antérograde et rétrograde de l'apprentissage du contexte. Herzog et Otto (1997, 1998) ont obtenu les mêmes résultats sur l'apprentissage du contexte par une lésion par aspiration (1997) ou excitotoxique (1998) du cortex périrhinal avant conditionnement, sans montrer d'effet sur l'apprentissage du SC Le cortex périrhinal semble donc jouer un rôle important dans l'apprentissage de peur au contexte. Par ailleurs, la lésion excitotoxique du cortex entorhinal avant le conditionnement perturbe l'apprentissage normal de peur conditionnée au contexte mais pas au SC (Majchrzak et collaborateurs, 2006; Maren et Fanselow, 1997; Schenberg, Soares et Oliveira, 2005).

De plus, Malin et McGaugh (2006) ont montré que lors d'un apprentissage de peur au contexte, la partie rostrale du cortex cingulaire antérieur est également impliquée: à la différence de l'hippocampe qui jouerait un rôle dans l'apprentissage du contexte, cette structure corticale serait impliquée dans la mémorisation de l'information nociceptive relative au SI.

L'ensemble de ces données montre que dans l'apprentissage des indices contextuels présents lors du conditionnement, l'amygdale et l'hippocampe sont deux structures nécessaires mais incorporées dans un réseau beaucoup plus vaste. Ainsi, quel qu'il soit, un apprentissage nécessite l'interaction de très nombreuses structures, impliquées à différents moments, que ce soit pour l'acquisition, la consolidation ou le rappel.

Pour conclure ce chapitre, dans le cas de l'apprentissage de peurs conditionnées visuelle ou auditive, l'amygdale et plus particulièrement le BLA semble être une structure clef. Son rôle exact, c'est-à-dire lieu de stockage définitif de l'association faite entre le SC et le SI (*théorie LeDoux*) ou lieu de modulation d'autres structures dans lesquelles se ferait la consolidation de la mémoire (*théorie McGaugh*) est toujours sujet à de vifs débats mais il semble indéniable que l'amygdale joue un rôle de tout premier ordre dans ce type de conditionnement. De nombreuses autres structures, dont le CPF et les cortex sensoriels qui ont servi au traitement initial du SC sont également des structures dans lesquelles des phénomènes de plasticité synaptique sont observés. Le BLA est également une structure clé dans l'apprentissage du contexte puisqu'il permettrait l'association entre la représentation du contexte effectuée par l'hippocampe et le SI aversif. Dans ce cas là encore, de nombreuses autres structures sont impliquées.

Cependant, comme je l'ai mentionné à plusieurs reprises, le modèle actuel de la neurobiologie de la peur conditionnée est basé sur l'utilisation majoritaire de stimulus auditifs ou visuels. Il nous est apparu important de rechercher si ce modèle était applicable dans le cas de stimuli olfactifs d'autant que, comme nous le verrons, l'anatomie des projections olfactives sur l'amygdale est très différente de celle décrite pour l'audition ou la vision.

Passons, si vous le voulez bien, au quatrième chapitre de cette thèse.

Chapitre 4

L'olfaction dans le conditionnement de peur

Les travaux effectués au cours de cette thèse s'insérant dans le cadre restreint du conditionnement de peur à une odeur, voyons ensemble plus précisément ce type d'apprentissage et les justifications de l'utilisation de cette modalité sensorielle.

4.1. Pourquoi la modalité olfactive ?

4.1.1. Importance de l'olfaction chez le rat

Le rat est un animal macrosmate, c'est-à-dire que l'olfaction est sa principale modalité sensorielle. Elle joue donc un grand rôle dans le contrôle de ses comportements, que ce soit dans la recherche de nourriture, l'évitement de dangers, la recherche de partenaires ou la communication sociale (pour revue, voir Doty, 1986). Par exemple, le comportement alimentaire du rat adulte peut être modifié par des interactions sociales. Un rat va pouvoir apprendre qu'une nourriture n'est pas nocive s'il sent son odeur dans l'haleine d'un congénère qui n'a pas été malade après en avoir ingéré. Par la suite, dans un test de choix à deux composantes, et alors que les deux nourritures sont nouvelles pour lui, il choisira celle qu'il a précédemment sentie chez ledit congénère (Galef et Wigmore, 1983).

Pour les animaux de laboratoire privés d'environnement naturel, il a été montré qu'ils sont malgré tout très performants dans les apprentissages olfactifs. Ainsi, ils sont capables d'apprentissages olfactifs extrêmement complexes qui rivalisent aisément avec les apprentissages visuels chez le primate (Nigrosh, Slotnick et Nevin, 1975; Slotnick, 2001). Cette constatation a amené Slotnick (2001) a proposé que les rats "*pensent avec leur nez*". Ces facultés olfactives très développées ont fait que le système olfactif des rongeurs, et du rat en particulier, est considéré comme un très bon modèle d'études des processus cognitifs (pour revue, voir Slotnick, 1994, 2001). Les rats sont ainsi capables d'apprendre de longues séquences d'odeurs (Dusek et Eichenbaum, 1997; Fortin et Eichenbaum, 2002) ou encore transférer la règle d'un apprentissage donné à de nouveaux stimuli présentés dans un contexte similaire (Lu, Slotnick et Silberberg, 1993; Saar, Grossman et Barkai, 1998, 1999; Saar et Barkai, 2003), c'est-à-dire que les rats sont capables "*d'apprendre à apprendre*" (Slotnick,

2001). Par ailleurs, ces animaux sont capables de retenir les apprentissages sur de longues périodes. En effet, ils montrent un souvenir presque parfait pour un jeu d'odeurs appris plus de 30 jours auparavant (Slotnick, 2001).

4.1.2. Particularités des projections du système olfactif: anatomie du système olfactif

L'anatomie détaillée du système olfactif a fait l'objet de nombreuses revues de synthèse (Hildebrand et Shepherd, 1997; Mori, 1987; Shipley et Ennis, 1996). Toutefois, pour la suite de cet exposé, je ne retiendrai que les éléments nécessaires et n'entrerai dans les détails que lorsque cela sera utile à la compréhension des travaux de cette thèse.

Le système olfactif se compose de deux sous-systèmes distincts qui traitent en parallèle des informations chimiques différentes: les composés volatiles sont détectés par les neurorécepteurs de l'épithélium olfactif qui se projettent sur le système olfactif principal. En revanche, les composés odorants non volatiles, telles les phéromones (Mori, 1987), sont détectées par l'organe voméronasal dont les neurones se projettent sur le système olfactif accessoire. Ma thèse étant axée sur le système olfactif principal, je ne traiterai que celui-ci.

Les molécules odorantes sont piégées par le mucus de la cavité nasale et sont captées par les neurorécepteurs de l'épithélium olfactif. Cet épithélium tapisse la cavité nasale, qui est plus ou moins circonvoluée selon les espèces: ainsi, le rat a un épithélium particulièrement circonvolué ce qui augmente grandement sa surface de captation des odeurs.

Les axones des neurorécepteurs se regroupent pour former le nerf olfactif, traversent la lame criblée de l'ethmoïde et se projettent alors sur le premier relais de l'information olfactive, le bulbe olfactif (BO).

4.1.2.1. Le bulbe olfactif

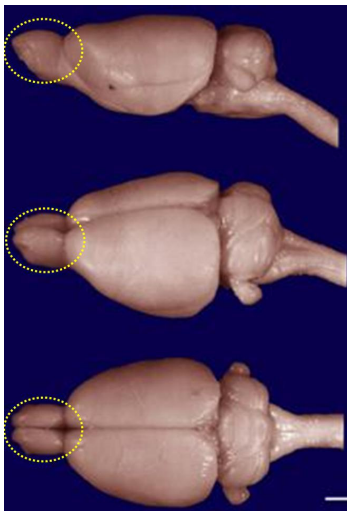


Figure 4.1
Photo d'un cerveau de rat. Le bulbe olfactif est cerclé de jaune.

Le rat possède un système olfactif développé et a donc un BO particulièrement volumineux comparativement à la taille de son cerveau. (voir Figure 4.1). Il est donc aisément accessible à l'expérimentateur.

Le BO présente une organisation laminaire formée de six couches de cellules concentriques avec, de la périphérie vers le centre: la couche des nerfs olfactifs, la couche glomérulaire, la couche plexiforme externe, la couche des cellules mitrales, la couche plexiforme interne et la couche des cellules granulaires. Les axones des neurorécepteurs font synapse sur les dendrites de plusieurs types cellulaires au niveau de la couche glomérulaire: les cellules mitrales et les cellules à panache, cellules relais du BO, et les cellules périglomérulaires (voir Figure 4.2). Les différentes synapses se font au niveau de sous-unités fonctionnelles du BO, les glomérules. Les glomérules sont des structures sphériques de 80 à 160 µm de diamètre qui sont délimités par les corps cellulaires des neurones juxta-glomérulaires, principalement les neurones périglomérulaires, les cellules à panache et les cellules à axone court (Pinching et Powell, 1971, 1972). Les cellules mitrales forment des synapses réciproques dendrodendritiques avec deux classes d'interneurones, les cellules périglomérulaires au niveau du glomérule et les cellules granulaires. Les axones des cellules mitrales et à panache forment le tractus olfactif latéral.

L'une des particularités anatomiques principales du système olfactif est que le BO se projette *directement et sans relais thalamique* sur de nombreuses structures limbiques et corticales. L'ensemble de ces structures est connu sous le vocable *cortex olfactifs primaires* (pour revue, voir Cleland et Linster, 2003). Pour la suite, je ferai une séparation entre les structures limbiques et non-limbiques.

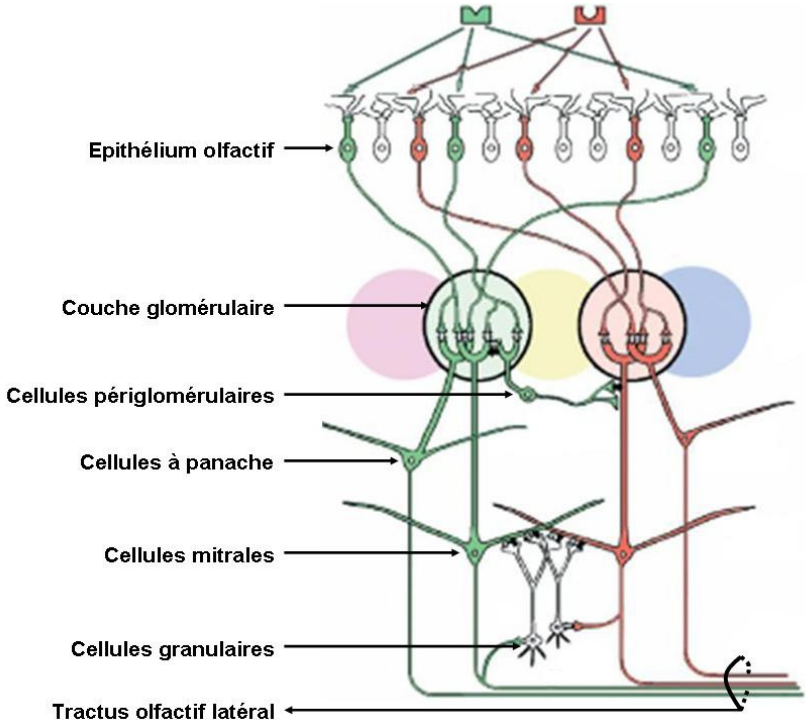


Figure 4.2 Schéma représentant les différentes couches cellulaires du bulbe olfactif

4.1.2.2. Projections du bulbe olfactif sur les structures non-limbiques

Tout d'abord, le BO se projette massivement sur le cortex piriforme, le noyau olfactif antérieur, et le tubercule olfactif (De Olmos, Hardy et Heimer, 1978, pour revue, voir Cleland et Linster, 2003) (voir Figure 4.2 p.118).

De toutes ces structures, le cortex piriforme est celle qui reçoit la plus forte innervation en provenance du BO (Haberly, 1973). Ce cortex est un paléocortex simple à trois couches. La couche I ou couche plexiforme est celle où se fait la majorité des synapses sur les dendrites des cellules pyramidales de ce cortex. Dans la couche Ia se font les synapses entre les cellules pyramidales et le tractus olfactif latéral, tandis que dans la couche Ib se fait la majorité des synapses d'un dense système de fibres d'association. Les couches II et III, plus profondes, contiennent les corps cellulaires des cellules pyramidales et non-pyramidales.

A partir d'observations anatomiques et fonctionnelles sur lesquelles nous reviendrons plus loin dans ce manuscrit, le cortex piriforme peut être divisé en deux parties distinctes, le cortex piriforme antérieur (CPa) et postérieur (CPp) (Chabaud et collaborateurs, 2000;

Chabaud, Ravel, Wilson et Gervais, 1999; Haberly, 1973; Litaudon, Datiche et Cattarelli 19973; Mouly, Fort, Benboutayab et Gervais, 2001; Mouly et Gervais, 2002). Anatomiquement, Haberly (1973) a montré que le BO est fortement connecté au CPa comparativement au CPp tandis qu'un réseau intrinsèque plus dense de fibres d'association existe dans le CPp, qui est plus fortement interconnecté aux structures associatives, tels le CPF et le cortex orbitofrontal (Haberly, 2001) (voir Figure 4.3).

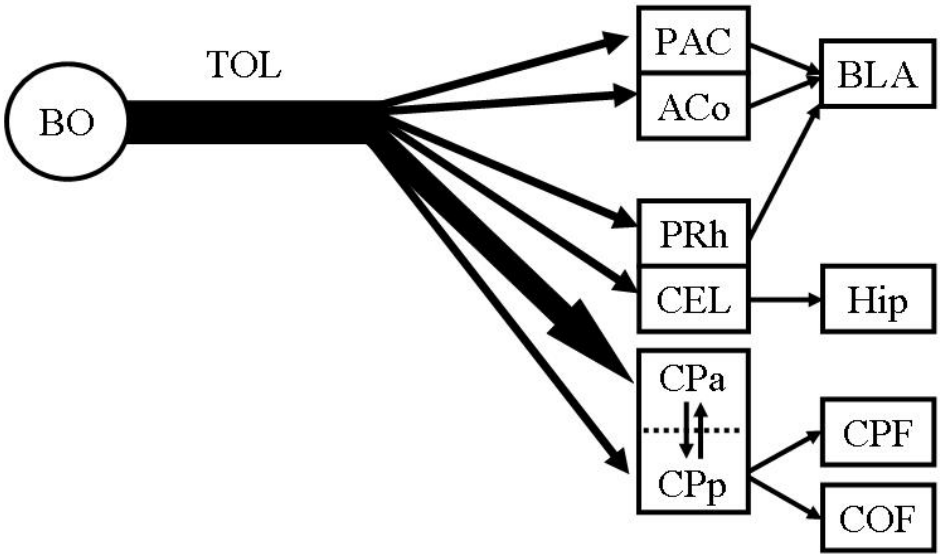


Figure 4.3 Schéma des principales voies de projections du bulbe olfactif

ACo: noyau cortical de l'amygdale; BLA: complexe basolatéral de l'amygdale; BO: bulbe olfactif; CEL: cortex entorhinal latéral; COF: cortex orbitofrontal; CPa, CPp: cortex piriforme antérieur et postérieur; CPF: cortex préfrontal; Hip: hippocampe; PAC: cortex périamygdalien, TOL: tractus olfactif latéral

4.1.2.3. Projections sur le système limbique

En plus de sa projection directe sur le cortex piriforme, le BO se projette en peu de synapses sur deux structures clef de la mémoire en général et du conditionnement de peur en particulier: l'amygdale et l'hippocampe (voir Figure 4.3).

Concernant l'hippocampe, le BO se projette d'abord sur le cortex entorhinal latéral qui se projette ensuite sur l'hippocampe. De nombreuses études ont montré l'importance fonctionnelle de cette structure dans les apprentissages olfactifs sur le rat vigile (par exemple, voir Kay et Freeman, 1998; Mouly, Fort, Benboutayab et Gervais, 2001). Le cortex entorhinal

latéral est la voie d'entrée majeure de l'hippocampe (pour revue, voir Cleland et Linster, 2003). Ainsi, les informations olfactives atteignent l'hippocampe en deux synapses.

Concernant l'amygdale, une seule synapse suffit: le BO se projette massivement sur le PAC et l'ACo, qui font partie des noyaux corticaux de l'amygdale (McDonald, 1998; Price, 1973). D'ailleurs, selon Swanson et Petrovich (1998), l'ACo serait un prolongement amygdalien du cortex piriforme. Ainsi, à la différence des systèmes visuel et auditif, le premier noyau amygdalien atteint par les afférences olfactives n'est pas le BLA. Il n'est atteint que secondairement, via l'ACo et le PAC, ce dernier s'y projetant de façon massive (Savander, LeDoux et Pitkänen 1996; Swanson et Petrovich, 1998). Comme pour les systèmes visuel et auditif, le système olfactif peut également atteindre le BLA indirectement via des structures corticales. Seulement, le BLA ne reçoit que de faibles afférences du cortex piriforme (Krettek et Price, 1978; Luskin et Price, 1983a; Ottersen, 1982; pour revue voir Otto, Cousens et Herzog, 2000). La voie corticale principale est via le cortex périrhinal antérieur, qui est fortement et réciproquement connecté au LA (Burwell, Witter et Amaral, 1995). Des voies plus indirectes existent également: le BO se projette sur le cortex piriforme et le cortex entorhinal latéral, qui se projettent à leur tour sur le cortex périrhinal (revue dans Otto, Cousens et Herzog, 2000). Cependant, bien que le BLA ne soit pas le premier noyau amygdalien atteint, il répond fortement aux odeurs puisque Cain et Bindra (1971) ont montré que 42% de ses neurones sont activés par la présentation d'odeurs, soit une proportion à peine plus faible que dans l'ACo (46%).

Ainsi, dans le système olfactif, les projections au niveau de l'amygdale ne se font pas directement au niveau des noyaux classiquement décrits comme impliqués dans le conditionnement de peur à des stimuli non olfactifs. Ces projections sont monosynaptiques et sans relais thalamiques, c'est-à-dire que le système olfactif se projette rapidement sur les structures impliquées dans la mémoire et les émotions. Au vu de ces particularités anatomiques, on peut se demander si le circuit mis en évidence dans le conditionnement de peur au son est également valide dans le cas d'un conditionnement de peur à l'odeur.

4.1.3. Le pouvoir évocateur des odeurs

Dans ce passage bien connu de *La madeleine*, Marcel Proust (1913/1987) raconte comment, dans son esprit, le goût et l'odeur des madeleines sont associés à ses souvenirs

d'enfance, au temps où il les mangeait dans le cadre familial, moments de sa vie dont il ne garde que des souvenirs heureux. Mais au fait, pourquoi le goût et la saveur lui rappellent-ils son enfance ?

Tout d'abord, chez l'homme, des études en psychologie ont montré que la mémoire des odeurs est très durable (Engen et Ross, 1973) et que celles-ci ont un fort pouvoir évocateur de souvenirs autobiographiques, particulièrement leurs aspects émotionnels (Chu et Downes, 2000b, 2002; Herz, 1998, 2004). Ces caractéristiques définissent *l'effet Proust* (pour revue, voir Chu et Downs, 2000a). En imagerie fonctionnelle (imagerie par résonance magnétique fonctionnelle ou en tomographie par émission de positrons), différentes expériences ont montré que la perception olfactive active non seulement le cortex piriforme mais également l'amygdale (Gottfried, Deichmann, Winston et Dolan, 2002). L'effet Proust explique par ailleurs sans doute pourquoi les odeurs sont capables de réévoquer des souvenirs émotionnels traumatiques associés à certains troubles comportementaux, le *syndrome de stress post-traumatiques*, connu autrefois sous le nom de désordre de guerre car observé le plus souvent chez des vétérans. Première cause de suicide due à des troubles anxieux (Kessler, Borges et Walters, 1999), le syndrome de stress post-traumatiques est défini aujourd'hui comme un désordre anxieux développé en réponse à un événement terrifiant, souvent potentiellement mortel (pour revue, voir McNally, 2006). Il apparaît chez les victimes de toutes sortes d'événements traumatisants: attentat, accident grave, agression, viol… Par la suite, la présentation d'un stimulus déclencheur, généralement anodin pour une personne saine, est capable de réévoquer le souvenir traumatique et entraîner des troubles du comportement. Parmi ces stimuli, les odeurs sont ceux qui ont le plus fort pouvoir évocateur (pour revue, voir Vermetten et Bremner, 2003). Au vu de l'anatomie susdécrite, on peut supposer que la propension qu'ont les odeurs à encoder et évoquer, plus que n'importe quel autre stimulus sensoriel, des souvenirs émotionnels pourrait provenir de la *proximité anatomique* entre le système olfactif et le système limbique.

Au niveau développemental, il a également été montré que le système olfactif et l'amygdale partagent certains mécanismes communs. Ikeda et collaborateurs (2003) ont étudié des souris mutantes pour la sous-unité α_2 de la pompe à sodium, qui assure notamment un homéostasie ionique de part et d'autre de la membrane plasmique et permet la recapture du glutamate et du GABA. Ainsi, le manque de cette protéine entraîne la mort cellulaire par excitotoxicité. Ils ont mis en évidence que les souris homozygotes montrent une anomalie de développement cérébral localisée uniquement dans le cortex piriforme et dans l'amygdale, au

niveau du BLA, du Ce et du Me, alors que l'hippocampe et le cortex cingulaire sont intacts. Ces souris meurent avant la naissance. Les souris hétérozygotes, elles, survivent, et montrent une hyperactivation de ces deux structures lors des tests de stress et de peur conditionnée à l'odeur ainsi que des comportements de peur exacerbés par rapport aux souris de phénotype sauvage. Ce résultat montre que cette sous-unité joue un rôle prépondérant dans le développement normal du cortex piriforme et de l'amygdale, ainsi que dans les comportements émotionnels chez l'adulte.

L'ensemble de ces données anatomiques, développementales et comportementales laissent supposer que l'utilisation d'une odeur comme SC peut se révéler parfaitement judicieux comme modèle d'étude des apprentissages émotionnels. Comme nous l'avons vu au chapitre précédent, l'immense majorité des études en conditionnement de peur a été faite chez le rat à l'aide de stimuli conditionnels sonores, parfois visuels. Ce n'est que récemment, il y a moins de dix ans, que la première étude utilisant un SC odorant a été publiée (Otto, Cousens et Rajewski, 1997). Voyons ensemble ce que l'on sait aujourd'hui du conditionnement de peur à l'odeur.

4.2. Le conditionnement de peur à l'odeur

4.2.1. Données comportementales

La première étude complète sur le conditionnement de peur à l'odeur (CPO ou apprentissage de PCO) fut celle de Otto, Cousens et Rajewski (1997). Dans cette étude, les auteurs ont montré que cet apprentissage comporte les mêmes caractéristiques comportementales que celles décrites dans le conditionnement au son (LeDoux, 2000). Lorsque l'odeur a été associée à des chocs électriques aux pattes lors de la séance de conditionnement, sa présentation seule lors du test de rétention entraîne la même réponse comportementales d'immobilité que lors de l'utilisation d'un SC sonore.

Cet apprentissage est acquis rapidement, en une seule séance de quelques essais et peut être retenu pendant une longue période, d'au moins quarante jours (Paschall et Davis, 2002). Chez la souris, la même facilité d'acquisition d'une association odeur-chocs a été mise

en évidence, en testant la réponse de peur par l'étude comportementale d'immobilité et de sursaut (Jones, Heldt, Davis et Ressler, 2005).

Les odeurs semblent donc avoir la même capacité que le son à être associées à un SI aversif. Cependant, au vu de l'anatomie, sont-ce les mêmes structures qui sous-tendent cet apprentissage?

4.2.2. Neurobiologie du conditionnement de peur à l'odeur

Nous ne disposons à l'heure actuelle que de peu de données dans la littérature concernant les structures impliquées dans le CPO. Les voici.

4.2.2.1. Etude de lésions irréversibles ou transitoires

La première étude comportementale publiée sur le sujet fut, comme nous l'avons vu ci-dessus, celle de Otto, Cousens et Rajewski (1997). L'année suivante, les chercheurs de ce groupe se sont intéressés à la structure tant décrite dans les conditionnements sonores et visuels, le BLA, en réalisant des lésions avant et après conditionnement (Cousens et Otto, 1998). Ils ont ainsi montré que lors du test de rappel, les rats qui avaient subi la lésion de cette structure 10 jours avant le conditionnement présentaient un déficit de réponse de peur au SC olfactif, mais que leurs performances sensorielles ne l'étaient pas. La même observation a été faite lorsque le BLA était lésé un ou quinze jours après le conditionnement. Les conclusions de cette étude sont que la lésion du BLA ne perturbe pas le traitement sensoriel des odeurs mais perturbe le rappel et/ou l'acquisition du CPO. Les auteurs se sont également intéressés au cortex périrhinal antérieur. Par une approche de lésion par aspiration (Herzog et Otto, 1997) ou par injection d'un agent excitotoxique (Herzog et Otto, 1998), ils ont montré que la lésion dix à quatorze jours avant le conditionnement atténue fortement sans abolir totalement la réponse de peur conditionnée à l'odeur mais pas au contexte. Les auteurs concluent donc que cette structure corticale, lieu de convergence entre des afférences olfactives et nociceptives (pour revue, voir Otto, Cousens et Herzog, 2000), pourrait avoir un rôle dans l'acquisition et/ou dans l'expression de cet apprentissage. Cependant, la technique de lésion ne

permet pas de préciser le rôle du BLA dans l'une ou l'autre de ces phases (acquisition ou rappel).

Pour palier à ce problème, Kilpatrick et Cahill (2003) ont inactivé le BLA de façon transitoire et réversible juste après le conditionnement par une injection de tétrodotoxine, un antagoniste non spécifique des canaux sodiques qui empêche la propagation du message nerveux. Lors du test de rétention, les auteurs ont constaté que les animaux ne montraient pas de comportement de peur en réponse au SC. Les auteurs en concluent donc logiquement que le BLA serait impliqué dans la consolidation.

La dernière étude à ce jour est celle de Walker, Paschall et Davis (2005) et leur étude du rôle du BLA et du Me lors de l'acquisition ou du rappel de l'apprentissage à l'aide d'inactivation spécifique des récepteurs NMDA (acide aminophosphonovalérique) ou AMPA (NBQX). Lors de l'acquisition, seule l'inactivation des récepteurs NMDA du BLA perturbe l'apprentissage. Lors de la phase de rappel, l'inactivation des récepteurs NMDA du BLA ou du Me n'a aucun effet. En revanche, pour ces deux structures, l'inactivation des récepteurs AMPA est délétère sur l'expression de l'apprentissage. Le BLA serait donc impliqué dans l'acquisition et le rappel de l'apprentissage de PCO, le Me ne serait impliqué qu'au moment du rappel.

4.2.2.2. Etude en cartographie cérébrale

Les seules données disponibles concernent deux études en c-fos. Cette technique consiste à euthanasier les rats suite au conditionnement ou au rappel, prélever leur cerveau et étudier l'activation d'un marqueur d'activation précoce, le gène c-fos.

La première étude fut celle de Funk et Amir (2000). Dans cette expérience, les auteurs ont fait subir un conditionnement de peur à l'odeur à trois groupes de rats: un groupe conditionné odeur-chocs et deux groupes témoins, un groupe pseudoconditionné chocs-odeur et un groupe dans lequel les rats ne recevaient que l'odeur. L'étude en c-fos fut faite après la séance de rappel de l'apprentissage (présentation de l'odeur seule six fois de suite). Les auteurs ont mis en évidence l'implication de nombreuses structures pour le groupe conditionné: le BO principal et accessoire, le noyau olfactif antérieur, le cortex infralimbique, le cortex orbitofrontal, les cortex péri- et entorhinal et le BLA.

La deuxième étude est celle de Schettino et Otto (2001) dans laquelle les auteurs ont conditionné des rats et utilisé la méthode de marquage du gène précoce c-fos suite au

conditionnement de PCO ou suite au rappel. Parmi les structures étudiées, la seule à être activée à la fois par les chocs et l'odeur est le Me antérieur. Par ailleurs, cette structure est la seule à montrer un nombre de cellules marquées plus important lors d'un conditionnement normal, c'est-à-dire odeur puis choc que lors d'un protocole n'entraînant pas d'apprentissage, c'est-à-dire lorsque l'odeur suit le choc électrique. Les auteurs proposent donc, suite à cette étude, que le Me antérieur pourrait être la structure impliquée dans l'acquisition. Ces données ne corroborent donc pas celles de Cousens et Otto (1998) obtenues en lésion, qui confèrent un rôle important au BLA. Lors du rappel, les auteurs ont noté l'activation du cortex périrhinal ventral, le noyau accumbens ainsi que des parties ventrale et dorsale de la substance grise périaqueducale, une structure connue comme nécessaire à l'expression comportementale d'immobilité (Fendt et Fanselow, 1999).

4.2.2.3. Etude en électrophysiologie

Rosenkranz et Grace (2002a) ont montré pour la première fois l'implication du BLA intact dans la phase d'acquisition du CPO à l'aide d'enregistrements unitaires sur animal anesthésié. Ces auteurs ont montré que la présentation d'une odeur de façon répétée entraînait une habituation car diminuait la réponse du BLA à cette odeur. En revanche, l'association odeur-choc entraîne une augmentation de l'activité spontanée en réponse à cette odeur, corrélée à une augmentation de l'excitabilité cellulaire. Cette plasticité est corrélée à une libération accrue de dopamine au moment des associations odeur-choc, qui permet l'augmentation d'excitabilité cellulaire. En effet, le blocage pharmacologique des récepteurs dopaminergiques bloque la plasticité observée dans le BLA.

Par ailleurs, Laviolette, Lipski et Grace (2005), ont étudié le cortex frontal. Sur l'animal anesthésié, suite au conditionnement, les neurones du CPF médian qui répondent à des stimulations du BLA, ont une augmentation de la fréquence en réponse à la présentation du SC odorant. Comme pour Rosenkranz et Grace (2002a), l'injection périphérique d'un antagoniste dopaminergique a permis de mettre en évidence le rôle de la dopamine au cours de l'acquisition. Chez l'animal vigile, la même injection après le conditionnement empêche également l'expression de PCO. Les auteurs montrent donc que les récepteurs dopaminergiques du CPF médian sont impliqués lors de la consolidation de l'apprentissage. Laviolette, Lipski et Grace (2003) ont également montré que les modifications de patrons de décharge dans le CPF médian sont très rapides et proposent que l'acquisition et le rappel du

PCO dépend d'une boucle BLA / CPF médian, sous contrôle, en partie, du système dopaminergique mésolimbique.

4.2.2.4. Etude en biologie moléculaire

Une étude récente d'hybridation *in situ* a permis de montrer un rôle probable du BLA dans la consolidation du CPO (Rattiner, Davis, French et Ressler, 2004). Les auteurs ont étudié la transcription de l'ARN messager codant pour une protéine connue pour être impliquée dans la PLT hippocampique, le *facteur neurotrophique du cerveau* (BDNF de l'acronyme anglais *Brain Derivated Neurotrophic Factor*). Deux heures après un conditionnement odeur/chocs ou lumière/chocs, ils ont observé un pic de sécrétion uniquement dans le BLA avec un retour à la normale après quatre heures. L'inactivation des récepteurs au BDNF avant le conditionnement mais pas avant le rappel perturbe l'expression de peur conditionnée. Les conclusions de cette deuxième étude sont que le BDNF dans le BLA et uniquement dans cette structure est un messager intracellulaire nécessaire lors de la consolidation, et peut-être de l'acquisition mais pas de l'expression de peur conditionnée.

4.2.3. Conclusion sur l'apprentissage de peur conditionnée à l'odeur

Bien que le nombre d'étude soit faible à ce jour, on peut néanmoins tenter d'avancer quelques hypothèses sur le réseau impliqué dans cet apprentissage: tout d'abord, comme pour les apprentissages non olfactifs, le BLA semble être impliqué lors de l'acquisition, de la consolidation et lors du rappel. Seule l'étude de Schettino et Otto (2001) ne montre pas d'activation spécifique de cette structure lors de l'acquisition ou du rappel. Par ailleurs, le Me semble également impliqué, lors de l'acquisition (Schettino et Otto, 2001) ou du rappel (Walker, Paschall et Davis, 2005). Enfin, le cortex périrhinal semble important pour l'expression de l'apprentissage. Ainsi, pour parcellaires qu'elles soient, l'ensemble des données disponibles concernant l'apprentissage de PCO semble mettre en évidence un vaste réseau de structures cérébrales, dont certaines sont les mêmes que celles mises en évidence dans le conditionnement de peur à d'autres modalités sensorielles.

Rentrons maintenant de façon effective dans les travaux effectués au cours de cette thèse.

4.3. Les questions qui restent en suspens

Comme on a pu le voir au chapitre précédent, les données concernant le CPO sont très parcellaires. Plusieurs questions fondamentales restent sans réponses.

- Tout d'abord, certaines structures qui sont plus spécifiques de la modalité olfactive n'ont été que très peu étudiées dans ce paradigme. Ainsi en va-t-il du cortex piriforme. Cette structure a été abondamment étudiée au préalable, sur animaux anesthésiés ou vigiles dans de nombreux types d'apprentissages olfactifs. Il apparaît qu'elle ne forme pas un tout homogène mais montre des différences anatomiques et fonctionnelles entre les parties antérieure et postérieure. Pour rappel, les afférences et efférences de ces deux sous-structures ne sont pas les mêmes, le CPa est fortement connecté au BO comparativement au CPp. A l'inverse, le CPp est parcouru d'un réseau intrinsèque plus dense de fibres d'association et est plus fortement connecté aux structures cérébrales associatives, tels le cortex insulaire, le cortex infralimbique, le CPF et le cortex orbitofrontal (Haberly, 2001). Au niveau fonctionnel, cette dissociation a été mise en évidence par Litaudon et Cattarelli (1995, 1996): ces auteurs ont enregistré les réponses électrophysiologiques dans le cortex piriforme suite à des stimulations électriques du BO à l'aide d'une méthode d'imagerie optique par coloration sensible au voltage. Ils ont ainsi pu élaborer des cartes d'activité du cortex piriforme en réponse à une stimulation du BO et mis en évidence des différences entre le CPa et le CPp. Sur l'animal vigile, des différences dans les rôles mnésiques ont également été mises en évidence dans plusieurs types d'apprentissage. Dans une tâche d'apprentissage olfactif discriminatif, Mouly, Fort, Benboutayab et Gervais (2001) et Mouly et Gervais (2002) ont montré, par l'enregistrement de potentiels de champs évoqués, que j'appellerai dorénavant *potentiels évoqués*, par la stimulation électrique du BO, que l'apprentissage s'accompagne d'une plasticité synaptique durable uniquement dans le CPp, tandis que les signaux enregistrés dans le CPa ne sont pas modifiés. Dans ces expériences, seul le CPp semble garder une *trace* de l'apprentissage effectué par les animaux. L'ensemble de ces données a amené certains auteurs à supposer que le CPa serait plutôt impliqué dans le traitement de l'aspect

sensoriel d'un stimulus olfactif de par sa forte connexion avec le BO (Haberly, 1973). Il serait par ailleurs impliqué dans les cas de mémoire très simple comme l'habituation (Wilson, 1998, 2000). Le CPp quant à lui, serait impliqué dans les processus mnésiques, c'est à dire le stockage et le rappel d'une information olfactive apprise (Haberly, 2001). Dans le CPO, les quelques données concernant l'implication ou non du cortex piriforme sont très faibles et contradictoires. Lors du test de rétention, Funk et Amir (2000) ont montré que cette structure est activée, sans faire la différence entre le CPa et le CPp, alors que Schettino et Otto (2001), à l'aide de la même méthode expérimentale (c-fos), n'ont pas montré d'activation de ce cortex. Ainsi, des expériences supplémentaires sont nécessaires pour savoir si le cortex piriforme est impliqué ou non dans cet apprentissage. Dans le cas où il le serait, il faudrait ensuite définir plus précisément les rôles respectifs du CPa et du CPp.

De plus, les relations anatomiques qui lient le système olfactif à l'amygdale sont particulières par rapport aux autres modalités sensorielles. En effet, la majorité des afférences du BO sur l'amygdale se font au niveau de l'ACo et du PAC et pas du BLA (McDonald, 1998; Price, 1973). Il ressort de ces particularités anatomiques que ces noyaux pourraient avoir un rôle fonctionnel dans cet apprentissage. Des expériences seraient nécessaires pour vérifier cette hypothèse.

- Par ailleurs, il n'est toujours pas possible de se faire une idée satisfaisante du rôle précis du BLA au cours de cet apprentissage. Il n'y a, pour le moment, que peu de données en lésions, électrophysiologie, imagerie cellulaire ou sur les processus moléculaires pour définir plus clairement son rôle. Et ces données sont contradictoires.

- Il n'existe actuellement aucune étude en électrophysiologie sur le rat vigile au cours de l'apprentissage de PCO. Cette méthode permet de tester le fonctionnement d'une structure lors des différentes phases de l'apprentissage (acquisition, consolidation, rappel, extinction…). Par ailleurs, alors que la conception actuelle de la mémoire fait appel à la notion de réseaux de structures, la majorité des études (imagerie métabolique mise à part) se focalise sur une structure à la fois. L'approche électrophysiologique offre la possibilité de pouvoir enregistrer l'activité de plusieurs structures simultanément.

Au vu de toutes ces remarques et critiques, voyons donc maintenant les objectifs de ce premier travail.

4.4. Objectifs de cette étude: enregistrements électrophysiologiques sur l'animal vigile

L'objectif de ce travail a été de rechercher si l'apprentissage de PCO s'accompagne de plasticité synaptique dans un réseau de structures incluant des aires corticales et limbiques. Pour cela, nous avons utilisé une approche d'enregistrements électrophysiologiques multisites sur des animaux vigiles. Nous avons choisi d'étudier les signaux de type potentiels évoqués induits par la stimulation électrique du BO. Le potentiel évoqué représente la réponse synchrone de toute une population de neurones et constitue un bon indice du fonctionnement synaptique global au sein de la population neuronale étudiée.

Notre travail a consisté en deux parties:

- Il a tout d'abord fallu mettre au point le protocole de conditionnement de peur à une odeur tel qu'il est décrit dans la littérature (Otto, Cousens et Herzog, 1997). Pour cela, une première étude comportementale visant à décrire le comportement de rats conditionnés a été effectuée pour s'assurer que dans nos conditions expérimentales, les animaux étaient capables d'acquérir cet apprentissage. Nous avons également testé la spécificité de l'apprentissage à l'aide d'un test comportemental avec une odeur témoin.
- Suite à cette étude comportementale, nous avons effectué une deuxième étude en électrophysiologie. Des animaux, implantés en chronique d'une électrode de stimulation dans le BO et de quatre électrodes d'enregistrement dans le CPa, le CPp, le BLA et l'ACo, ont été soumis à notre protocole. L'amplitude des potentiels évoqués fut mesurée avant l'apprentissage afin de définir leur ligne de base, puis lors du test de rappel, tout d'abord sans odeur dans la cage puis lors de l'introduction de ce SC. Nous pûmes ainsi évaluer les phénomènes de PLT naturelle mis en place au cours de l'apprentissage.

Sevelinges Y, Gervais R, Messaoudi B, Granjon L

et

Mouly AM (2004)

Olfactory fear conditioning induces field potential potentiation in rat olfactory cortex and amygdala.

Learning and Memory 11:761-769.

Research

Olfactory fear conditioning induces field potential potentiation in rat olfactory cortex and amygdala

Yannick Sevelinges, Rémi Gervais, Belkacem Messaoudi, Lionel Granjon, and Anne-Marie Mouly[1]

Institut des Sciences Cognitives, Unité Mixte de Recherche (UMR) 5015, Centre National de la Recherche Scientifique–Université Lyon 1, and Institut Federatif des Neurosciences (IFR 19), 69675 Bron Cédex, France

The widely used Pavlovian fear-conditioning paradigms used for studying the neurobiology of learning and memory have mainly used auditory cues as conditioned stimuli (CS). The present work assessed the neural network involved in olfactory fear conditioning, using olfactory bulb stimulation-induced field potential signal (EFP) as a marker of plasticity in the olfactory pathway. Training consisted of a single training session including six pairings of an odor CS with a mild foot-shock unconditioned stimulus (US). Twenty-four hours later, the animals were tested for retention of the CS as assessed by the amount of freezing exhibited in the presence of the learned odor. Behavioral data showed that trained animals exhibited a significantly higher level of freezing in response to the CS than control animals. In the same animals, EFPs were recorded in parallel in the anterior piriform cortex (aPC), posterior piriform cortex (pPC), cortical nucleus of the amygdala (CoA), and basolateral nucleus of the amygdala (BLA) following electrical stimulation of the olfactory bulb. Specifically, EFPs recorded before (baseline) and after (during the retention test) training revealed that trained animals exhibited a lasting increase (present before and during presentation of the CS) in EFP amplitude in CoA, which is the first amygdaloid target of olfactory information. In addition, a transient increase was observed in pPC and BLA during presentation of the CS. These data indicate that the olfactory and auditory fear-conditioning neural networks have both similarities and differences, and suggest that the fear-related behaviors in each sensory system may have at least some distinct characteristics.

Pavlovian fear conditioning has been one of the most widely used paradigms for studying the neurobiology of learning and memory (for review, see LeDoux 2000; Maren 2001). It consists of pairing an initially neutral stimulus (the conditioned stimulus or CS) with an aversive unconditioned stimulus (US), generally a mild foot-shock. Subsequent re-exposure to the CS elicits a variety of behavioral and physiological responses, such as freezing, considered to reflect a central state of fear. The vast majority of these studies have used auditory CSs, and the corresponding neural network has been well characterized (for review, see LeDoux 2000). The information carried by the auditory CS is relayed to processing areas in the auditory thalamus and proceeds to the auditory association cortex, although both the thalamic and cortical areas send projections to the lateral nucleus of the amygdala, which is a site of CS–US convergence. The lateral nucleus, in turn, projects to the central amygdala, which controls the expression of fear responses through projections to brainstem areas (LeDoux 2000; Maren 2001). Currently, there is general consensus that the amygdala plays a critical role in conditioned fear linking external stimuli to defense responses, as far as auditory or visual stimuli are used for conditioning.

The present study investigated the neural circuit involved in olfactory fear conditioning in rats for two main reasons. First, for rodents, olfaction plays a dominant role in the control of behavior, and previous studies suggest that olfactory learning has unique features concerning acquisition, retention, and extinction (for review, see Slotnick 2001). Second, the olfactory system has unique connections to the amygdala. Indeed, the main olfactory bulb makes dense monosynaptic contacts with nuclei of the corticomedial amygdaloid group, including the nucleus of the lateral olfactory tract, the cortical nucleus of the amygdala (CoA), and the periamygdaloid cortex (Price 1973; McDonald 1998). These observations led Swanson and Petrovich (1998) to suggest that the corticomedial amygdala is an integral component of the olfactory system. These superficial nuclei are a major source of the projections from the amygdala to the hypothalamus (Price et al. 1991). In contrast, the deeper amygdaloid nuclei, including the basolateral nuclear group (BLA), do not receive projections from the olfactory bulb and receive relatively weak projections from the olfactory piriform cortex (Krettek and Price 1978; Ottersen 1982; Luskin and Price 1983). However, they receive fairly dense projections from the corticomedial amygdala (Savander et al. 1996). Taken together, these anatomical data suggest that olfactory information has a unique direct access to the amygdala, with no thalamic relay. Using olfactory cues as CS in fear conditioning will therefore permit the testing of the generality of the current neural models of learning and memory, which are mainly based on auditory stimuli. In addition, our results could provide a particularly relevant model for identifying the relative contribution of sensory cortices and amygdalar nuclei to memory processes.

In parallel to these anatomical considerations, recent behavioral data have shown that olfactory fear conditioning induces robust emotional responses. Otto et al (1997, 2000) measuring freezing behavior as an index of learned fear reported that olfactory fear conditioning resulted in robust and long-lasting associations between an olfactory CS and a foot-shock US. Richardson et al (1999), and later, Paschall and Davis (2002) using fear potentiated startle as another measure of learned fear, showed that an odor previously paired with shock was a particularly effective stimulus for potentiating the startle response in rats. Moreover, in a subsequent study, Richardson et al (2002) re-

[1]**Corresponding author.**
E-mail mouly@isc.cnrs.fr; fax 04-37-91-12-10.
Article published online ahead of print. Article and publication date are at http://www.learnmem.org/cgi/doi/10.1101/lm.83604.

ported that extinction of learned fear potentiation of startle occurs more slowly with an olfactory CS than with auditory or visual ones.

Concerning the neural basis of olfactory fear conditioning, very few studies are available in the literature. Olfactory fear conditioning uses the basolateratal amygdala (Sullivan et al. 2000; Moriceau et al. 2004) and Cousens and Otto (1998) showed that pre- and posttraining excitotoxic lesions of the BLA abolished the expression of olfactory fear conditioning in rats. These data were further confirmed by Kilpatrick and Cahill (2003) using reversible inactivation of BLA with tetrodotoxin following paired odor-shock presentation in rats. This treatment resulted in a deficit in learning, thus suggesting that BLA plays a role in consolidation of olfactory fear conditioning. Rosenkranz and Grace (2002) performed in vivo intracellular recordings in the lateral nucleus of the BLA during acquisition of an odor fear conditioning under anesthesia, in rats. Their data revealed that repeated pairing of an odor with a foot-shock induced enhanced post-synaptic potential responses in neurons of the BLA, and that this modification resulted from local changes in synaptic efficacy, and was dependant on dopamine. Taken together, these data suggest that BLA plays a major role in olfactory fear conditioning, thus extending to odor cues the previous observations obtained with auditory and visual CS.

Beside the above studies concerning the role of BLA, sparse studies have investigated the potential involvement of other amygala nuclei or of olfactory cortical areas in this learning. Herzog and Otto (1997) showed that anterior perirhinal cortex disrupted fear conditioning to olfactory stimulus. Schettino and Otto (2001) measuring cFos expression related to the acquisition and expression of olfactory fear conditioning, reported that the anterior region of the medial nucleus of the amygdala, as well as ventral perirhinal cortex, could be critically involved in this learning. Using the same technique, Funk and Amir (2000) also showed that presentation of the aversive conditioned odor stimulus induced an enhanced increase in levels of Fos expression in the main and accessory olfactory bulbs and in the anterior olfactory nucleus. However, in behaving animals, no electrophysiological correlates of olfactory fear conditioning have been done. Thus, the major aim of the present study was to investigate whether olfactory fear conditioning induced synaptic changes within the olfactory pathway, mainly focusing on olfactory cortical areas, namely the piriform cortex, and amygdala cortical and basolateral nuclei.

The first part of this study described the main behavioral characteristics of the olfactory fear-conditioning response. The second part consisted of an electrophysiological study carried out during olfactory fear conditioning that took advantage of the well-documented olfactory system and its connections to the amygdala. Evoked field potential signals (EFPs) were induced by electrical stimulation of the olfactory bulb and collected simultaneously in the anterior piriform cortex (aPC), the posterior piriform cortex (pPC), the cortical nucleus of the amygdala (CoA), and the basolateral nucleus of the amygdala (BLA) before and after acquisition of an olfactory fear conditioning.

Experiment 1: Behavioral study

Results

Freezing behavior observed during the 8-min CS-test session in animals trained and tested with the Isoamylacetate CS (Group 1) is displayed in Figure 1A. The ANOVA revealed a main effect for the group [$F_{(1,10)} = 17.463$, $p = 0.002$], the minute [$F_{(7,70)} = 14.44$, $p < 0.001$), and for group×minute interaction [$F_{(7,70)} = 5.084$, $p < 0.001$]. Post-hoc tests revealed no statistical difference between groups before the CS odor was introduced (the first 2 min).

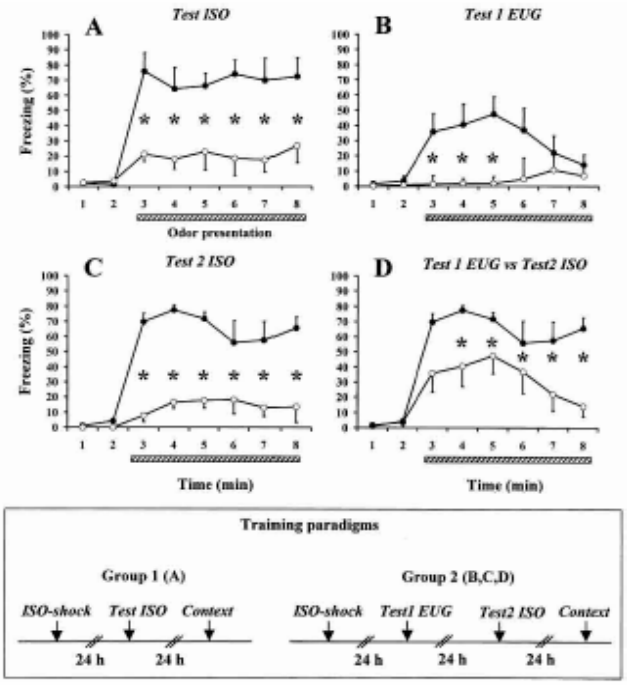


Figure 1. Percentage of freezing (Mean ± SEM) for each minute of the CS-test session, in the different experimental groups. The *bottom* of the figure summarizes the training procedures used in the different groups. (*A*) Group 1, trained animals ($n = 6$, ●) and control animals ($n = 6$, ○). The animals were trained and tested with Isoamylacetate. (*B*) Group 2, Test 1, trained animals ($n = 6$, ●) and control animals ($n = 6$, ○). The animals were trained with Isoamylacetate and tested with a novel odor, Eugenol. (*C*) Group 2, Test 2, trained animals ($n = 6$, ●) and control animals ($n = 6$, ○). Twenty-four hours after Test 1, the animals were tested with Isoamylacetate CS. (*D*) Group 2, trained animals, Test 1 vs. Test 2. Comparison of the freezing response to the Isoamylacetate CS ($n = 6$, ●) and to Eugenol ($n = 6$, ○). (*) Significant difference between the two sessions ($p < 0.05$).

However, from minutes 3–8, i.e., when the Isoamylacetate CS was presented, trained animals exhibited significantly higher levels of freezing than control animals.

To assess odor specificity, another group of animals (Group 2) was trained with Isoamylacetate, but later tested with a novel odor (Eugenol), and 24 h later with the conditioned odor (Isoamylacetate). Results from the novel Eugenol odor test showed that trained rats compared with control showed no freezing prior to the introduction of the novel odor, but significantly more freezing for the first few minutes of the odor presentation (Fig. 1B). Specifically, the ANOVA revealed a significant difference for the factors group [$F_{(1,10)} = 14.592$, $p = 0.003$], minute [$F_{(7,70)} = 3.379$, $p = 0.004$], and for group×minute interaction [$F_{(7,70)} = 3.302$, $p = 0.004$]. Post-hoc tests revealed no difference between the two groups during the first 2 min, i.e., before introduction of Eugenol. At minute 3, i.e., when Eugenol was presented, trained animals showed a significantly higher percentage of freezing than control animals ($p = 0.019$). This difference remained significant until minute 5 ($p < 0.05$), after which the two groups no longer differed statistically. These data suggest there was some generalization from the conditioned odor to the novel odor.

Animals were then tested with the odor that was present during conditioning, i.e., Isoamylacetate. (Fig. 1C). The ANOVA revealed a significant effect for the factors group [$F_{(1,10)} = 53.29$, $p < 0.001$], minute [$F_{(7,70)} = 18.44$, $p < 0.001$], and for group×minute interaction [$F_{(7,70)} = 7.88$, $p < 0.001$]. Post-hoc comparisons showed that there was no significant difference be-

tween trained and control animals during the first 2 min of the session, but that from minutes 3–8, i.e., as long as the conditioned odor Isoamylacetate was present, trained animals showed a significantly higher percentage of freezing than control animals ($p < 0.05$). We further compared the freezing behavior displayed by trained animals during the two test sessions (Eugenol vs. Isoamylacetate, Fig. 1D). Wilcoxon comparisons revealed that, from minutes 4–8, the percentage of freezing elicited in response to the conditioned odor Isoamylacetate was significantly higher than that observed in response to novel Eugenol odor.

Contextual conditioning was assessed in Groups 1 and 2, during a specific context testing session as displayed in Table 1. Specifically, in Group 1, the ANOVA revealed no effect for the factors group [$F_{(1,10)} = 0.266$, $p = 0.617$] nor for group×minute interaction [$F_{(5,50)} = 0.132$, $p = 0.984$]. Similarly, in Group 2, trained and control animals were not significantly different from one another. Indeed, ANOVA revealed no effect for the factors group [$F_{(1,10)} = 3.358$, $p = 0.097$] nor for group×minute interaction [$F_{(4,40)} = 0.976$, $p = 0.431$]. Therefore, trained animals in Groups 1 and 2 did not learn contextual cues.

Discussion

Previous studies have shown that animals trained in a classical fear-conditioning paradigm exhibit freezing responses when re-exposed to either the context in which conditioning occurred, or to the CS in a separate context. In our learning paradigm, animals trained and tested to the CS odor (Group 1) exhibited robust freezing responses when re-exposed to the learned CS Isoamylacetate. The conditioned fear response lasted the entire duration of the test, thus confirming the data previously reported by Otto et al (1997, 2000) that suggests olfactory cues show long retention rates.

However, in our odor specificity test (Group 2), some freezing was elicited by presentation of a novel odor. Specifically, the data showed that Eugenol induced a significant freezing response in animals trained with Isoamylacetate as a CS. However, the amplitude of this freezing response was lower and its duration shorter than those obtained in the presence of the CS. Isoamylacetate and Eugenol belong to two different chemical families (Ester for the former and alcohol for the latter) and are qualitatively very different. Therefore, freezing obtained in response to Eugenol can hardly be ascribed to similarities between the two odors. It can rather be explained by a relative generalization of the conditioned fear response to any odorant presented in the experimental situation.

No contextual conditioning was detected in our animals. Specifically, no freezing response was detected in trained animals during the first 2 min of the CS-test session, before introduction of the CS. Measuring animals' behavior before introduction of the CS in a test cage different from the conditioning context gives information about generalization phenomenon (freezing when no CS is present, and outside the conditioning context). Therefore, it can be concluded that in the present study, the trained animals did not generalize the conditioned response to the contextual cues of the CS-testing cage.

Additionally, no freezing response was observed when trained animals were re-exposed to the training context. Therefore, in our experimental conditions, animals did not associate the contextual cues of the training cage to the foot-shock. In a recent study, Baldi et al (2004) examined the relationship between foot-shock intensity and the freezing response to both CS cue and the context. They reported that both cue and contextual conditioning was found with a 0.5-mA intensity foot shock, although only cue conditioning was found for the milder 0.3-mA foot-shock intensity. In the present study, we used 0.4 mA foot-shock intensity, and our results suggest this intensity of foot-shock is also too mild to support contextual conditioning.

Taken together, the behavioral data show that our experimental animals developed odor-shock cue learning with no contextual learning. Although not strictly specific, the conditioned response appeared, however, to be stronger for the odorant used as a CS during training.

Experiment 2: Electrophysiological study

Results

Behavioral data

The animals used for EFPs were tested for their freezing response during CS and context test sessions. As shown in Table 2, behavioral results were similar to the results of Experiment 1, although baseline immobility ratings were higher across both the trained and control animals, perhaps due to the presence of the recording cables. However, trained animals showed significantly more odor-induced freezing behavior than control animals with no contextual conditioning. Specifically, the ANOVA revealed a main effect for minute [$F_{(7,105)} = 11.117$, $p < 0.001$] and for group×minute interaction [$F_{(7,105)} = 2.66$, $p = 0.014$]. Post-hoc tests revealed no significant difference between groups for the first 2 min, i.e., before the introduction of the CS. At minute 3, i.e., when Isoamylacetate was introduced, animals in the trained group presented a significantly higher level of freezing than control animals. This difference remained significant at minute 4, after which control and trained animals did not differ anymore. Further, intragroup comparisons showed that in trained animals, but not in control animals, freezing behavior exhibited during minutes 3–8 was significantly higher than that observed during the first 2 min of the session ($p < 0.01$ for all the comparisons).

Concerning context-test, the ANOVA revealed no effect for the factors group [$F_{(1,14)} = 0.002$, $p = 0.969$] nor for group×minute interaction [$F_{(5,70)} = 0.176$, $p = 0.971$].

Electrophysiological data

As illustrated in Figure 2, EFPs were collected at each recording site during the 2 min prior to CS odor introduction (pre-odor period) and the 6 min during odor (odor-period), and compared with baseline preconditioning signals. The ANOVA revealed the following differences: concerning the factor group, a significant effect was obtained in CoA [$F_{(1,14)} = 4.67$, $p = 0.048$] and BLA [$F_{(1,14)} = 7.10$, $p = 0.018$], and a tendency in pPC [$F_{(1,15)} = 3.85$, $p = 0.069$]. Concerning the factor period, a significant effect was obtained in pPC [$F_{(1,15)} = 9.34$, $p = 0.008$] and CoA [$F_{(1,14)} = 7.12$, $p = 0.018$], and a tendency in BLA [$F_{(1,14)} = 4.03$, $p = 0.060$]. No significant effect of either factor was observed in aPC.

Wilcoxon comparisons carried out in the trained group revealed that during the pre-odor period, i.e., the first 2 min of the session when the animal was in the test cage, but received no odor stimulation, there was a significant increase in the amplitude of EFP sig-

Table 1. Percentage of freezing (mean ± SEM) for each minute of the context-test session, in the different experimental groups

Minutes	1	2	3	4	5	6
Trained group 1	1 ± 1	2 ± 1	11 ± 6	7 ± 3	13 ± 5	16 ± 9
Control group 1	1 ± 1	0.5 ± 0.3	10 ± 3	4 ± 2	13 ± 5	10 ± 3
Trained group 2	0 ± 0	6 ± 5	8 ± 4	26 ± 7	13 ± 5	16 ± 8
Control group 2	0 ± 0	0 ± 0	1 ± 1	8 ± 5	5 ± 2	9 ± 4

Table 2. Percentage of freezing (mean ± SEM) for each minute of the CS-test and context-test, in trained ($n = 9$) and control ($n = 8$) implanted animals

CS-test								
Minutes	1	2	3	4	5	6	7	8
Trained	18 ± 9	26 ± 8	84 ± 4[a,b]	88 ± 4[a,b]	82 ± 7[b]	78 ± 6[b]	76 ± 8[b]	75 ± 1[b,a]
Control	35 ± 14	33 ± 11	43 ± 12	60 ± 12	60 ± 10	55 ± 15	61 ± 12	63 ± 12

Context-test						
Minutes	1	2	3	4	5	6
Trained	8 ± 5	30 ± 8	30 ± 9	30 ± 12	53 ± 9	58 ± 14
Control	15 ± 6	26 ± 11	35 ± 11	41 ± 11	54 ± 15	58 ± 12

[a]Between group comparisons, significant difference between trained and control animals ($p < 0.05$).
[b]Within group comparisons, significant difference compared with the first 2 min in the CS-test session ($p < 0.05$).

nal collected in the CoA ($p = 0.025$) compared with baseline. No significant effect was observed for the other recording sites. Concerning the odor-period, i.e., the 6 min during which the learned odor was presented, a significant increase in signal amplitude compared with baseline was observed in CoA (0.012) and BLA ($p = 0.038$). Comparisons between pre-odor and odor periods additionally showed that introduction of the learned odor induced significant increases in two recording sites as follows: pPC ($p = 0.021$) and CoA ($p = 0.05$).

In the control group during the pre-odor period, a tendency to decrease was observed in all the recording sites, but it did not reach a significant level. During the odor period, no significant variation in EFP amplitude compared with baseline was observed.

For each recording site, mean EFP signals obtained for each single minute of the CS-test session were then compared with baseline signals in order to test for the temporal dynamics of the observed modifications in a given site throughout the session. The data are represented in Figure 3. The ANOVA revealed a main effect of group [$F_{(1,54)} = 16.878$, $p < 0.001$] and of minute [$F_{(7,378)} = 6.414$, $p < 0.001$]. Further Wilcoxon comparisons revealed that in CoA of trained animals, the mean per minute EFPs amplitudes were significantly greater than baseline from minutes 1–8 ($p < 0.05$, except for minute 2, for which only a statistical tendency was observed; $p = 0.069$). In addition, the enhancement described above in CoA between pre-odor and odor periods appeared to peak at minutes 3 and 7. In the BLA, a tendency to increase was observed during minutes 1 and 2, but it did not reach a significant level. The further enhancement observed during the odor period was significant for minutes 3, 4, 5, and 7 ($p \leq 0.05$). Finally, the enhancement observed in pPC during the odor period compared with the pre-odor period appeared to peak at minutes 3 and 6.

Discussion

Behavioral data

Trained and control animals presented the same level of freezing during the first two minutes of the CS-test session, i.e., before introduction of the odor. Following introduction of the conditioned odor, trained animals exhibited significantly higher levels of freezing than control animals. This difference remained significant until minute 4, after which trained and control animals presented the same level of freezing. Therefore, compared to data from Experiment 1, which showed a significant difference between trained and control animals from minutes 3–8, the difference between trained and control-implanted animals vanished rapidly. However, it must be noted that implanted animals in both trained and control groups presented basal levels of nonassociative freezing significantly higher than those observed in nonimplanted animals in Experiment 1. This difference might be due to the fact that surgery has rendered implanted animals more anxious, or that recording cables connecting the animals to the apparatus disrupted animals' spontaneous behavior. The high level of basal freezing in control-implanted rats could have thus masked the conditioned freezing response in trained-implanted animals. Nevertheless, intragroup comparisons revealed that, unlike control animals, the freezing response observed in trained animals during each of the 6 min of CS-odor presentation was significantly higher than that displayed before odor introduction.

Electrophysiological data

Cellular origins of the recorded signals

The EFP observed in piriform cortex in response to lateral olfactory tract stimulation has been well described in the literature (Haberly 1973; Ketchum and Haberly 1993) and mainly consists of a large surface-negative, deep-positive wave thought to be generated by a monosynaptic excitatory postsynaptic potential in pyramidal cells. The EFP recorded in cortical amygdala has been much less studied (but, see McNamara et al. 2004), however, this structure presents many anatomical similarities with the piriform cortex regarding its cellular components and laminar organization. It can thus be assumed that the EFP components recorded in this structure share the same characteristics as those recorded in the piriform cortex. Therefore, in aPC, pPC, and CoA, an increase in EFP peak amplitude can be interpreted as an enhancement of the excitatory response of the population of neurons

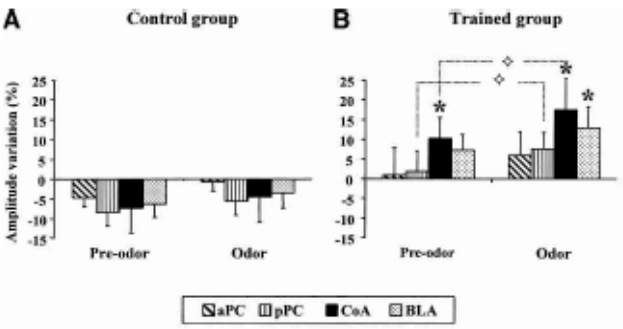


Figure 2. Mean (±SEM) variation in EFPs amplitude measured in control (A, $n = 8$) and trained (B, $n = 9$) animals, in the four recording sites, during the CS-test session. Changes are expressed in percentage of variations compared with the amplitude of the baseline obtained before conditioning. EFPs collected during the first 2 min of the session (Pre-odor period) and during the 6 min of CS odor presentation (Odor period) were pooled separately. (aPC) Anterior piriform cortex; (pPC) posterior piriform cortex; (CoA) cortical nucleus of the amygdala; (BLA) basolateral amygdala. (◇) Significant difference between Pre-odor and Odor periods ($p < 0.05$). (*) Significant difference compared with baseline signals ($p < 0.05$).

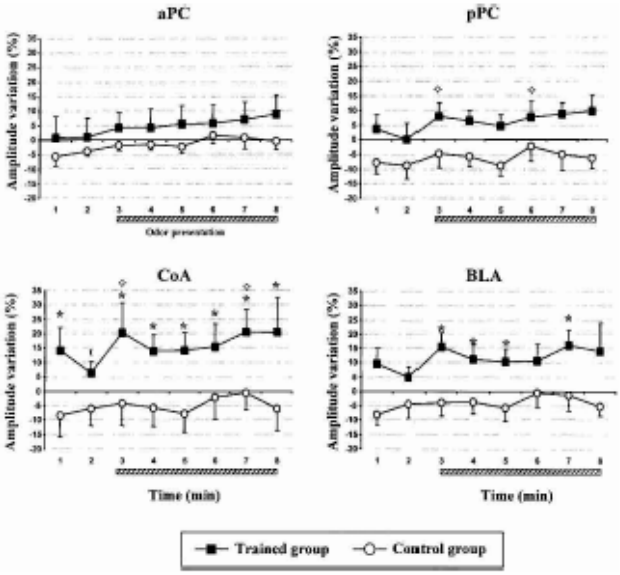


Figure 3. Mean (± SEM) variation in EFPs amplitude of signals collected in the four recording sites, in trained ($n = 9$) and control ($n = 8$) animals, during the 8-min CS-test session. The EFPs collected during each minute of the session were averaged and analyzed separately. Changes are expressed as percent variations from the baseline signals collected before training. (aPC) Anterior piriform cortex; (pPC) posterior piriform cortex; (CoA) cortical nucleus of the amygdala; (BLA) basolateral amygdala. (*) Significant difference compared with baseline signals ($p < 0.05$). (◊) Significant difference with at least 1 of the first 2 min ($p < 0.05$).

sampled by the electrode. Concerning EFP recorded in basolateral amygdala, the interpretation is more subject to caution since there are no direct projections from the olfactory bulb to the BLA. Therefore, the main component of the signal is at least disynaptic. An increase in BLA signal peak amplitude can thus be interpreted as resulting from enhanced transmission within BLA or from a distal increase in a structure sending projections to the BLA.

Advantages and limitations of the technical approach

We chose to use electrically induced EFPs instead of olfactory-induced EFPs for two main reasons. First, an odor unlike a tone (Rogan et al. 1997; Tang et al. 2001, 2003) hardly induces measurable EFPs that can be studied in freely moving animals in the course of a fear-conditioning paradigm. Second, using electrical stimulation to induce EFPs allowed us to investigate whether learning-induced changes could be detected in the absence of CS, and of the associated fear response. This advantage is of importance in order to differentiate changes linked to the processing of the learned CS that are concomitant with the expression of conditioned fear from changes outlasting the presentation of the CS, which can therefore be dissociated from the behavioral response.

The EFP signals recorded in the present study represent the synchronous postsynaptic activation of a large number of cells in each structure. Increase in EFP amplitude can thus be interpreted as a global enhancement of the response of this population. In the current view of memory (Martin and Morris 2002), these learning-related lasting changes could represent the substrate of the memory trace of the learned odor. Although the size of the observed changes (10%–20%) could be considered as small compared with that reported in studies using natural auditory stimuli (100%–150%; Rogan et al. 1997; Tang et al. 2003), it is, however, in the same range as that obtained in experiments using electrically induced EFPs (Doyère et al. 1995; Herry et al. 1999; Desmedt et al. 2003). Interestingly, in the olfactory system, Wilson (1998a) compared the changes obtained in the piriform cortex of anesthetized rats following habituation to different odors (among which was Isoamylacetate), on the synaptic response evoked by either the odor or the electrical stimulation of the lateral olfactory tract. The investigator reported that the changes observed on odor-evoked signals (60%–70%) were far greater than those seen on electrically induced signals (15%–20%). The investigator argued that electrical stimulation of the olfactory bulb is nonspecific compared with the probable effects of odor stimulation, and has probably activated both habituated and nonhabituated synapses. Similarly, in the present experiment, both potentiated and nonpotentiated synapses might have been activated by electrical stimulation of the olfactory bulb, thus explaining the relatively low size of the observed changes.

Summary of the observed changes in EFP signals

The present study was designed to investigate whether synaptic changes could be detected at different levels of the olfactory pathways following olfactory fear conditioning in awake-behaving animals. The data showed that olfactory fear conditioning was accompanied by (1) a lasting increase in CoA, i.e., an increase observed in presence as well in absence of stimulus presentation, (2) a transient increase in BLA, i.e., an increase observed in presence of the CS, (3) a facilitation of the potentiation by odor presentation, in pPC and CoA.

General interpretation of the observed potentiations

All of the potentiation phenomenons described in trained animals were absent in control animals. Therefore, they cannot be ascribed to the nonspecific effects of repeated daily electrical stimulation of the olfactory bulb.

Concerning the transient increases, i.e., those observed in the presence of the CS odor, whereas the animals exhibited a robust conditioned freezing response, it could be argued that these changes are a consequence of nonspecific effects of the behavioral response, like modulation of brain temperature by freezing at the time of EFPs sampling (Moser et al. 1993). Although we cannot entirely discard this possibility, two kinds of arguments allow us to suggest that it is unlikely. First, control-implanted animals presented a high level of basal nonassociative freezing, yet their EFP signals did not vary significantly throughout the CS-test session, even presenting a tendency toward a global decrease. Second, in a recent experiment, Goosens et al. (2003) studying auditory-evoked spike firing in the lateral amygdala following fear conditioning found that the expression of conditional freezing was neither necessary nor sufficient for the expression of conditional increases in CS-evoked spike firing.

The lasting increases, i.e., the increases observed during the first 2 min of the session, cannot be ascribed to the expression of a fear state. Indeed, this increase was observed when the CS odor was absent, whereas the animals exhibited a freezing response identical to that observed in control animals. It could be argued that the enhancement observed before introduction of the CS is the consequence of lasting modifications sustaining learning of contextual cues. However, the behavioral data from the context-test revealed that trained animals did not exhibit freezing when re-exposed to the training context, thus confirming the data obtained in Experiment 1. Therefore, it can be suggested that this potentiation is a lasting consequence of the associative CS–US learning. Whether this potentiation is also present when the animal is in its home cage or is expressed only when the rat is introduced in the test cage would deserve further investigations.

Transient potentiation in pPC

The transient increase observed in pPC during odor presentation in trained animals could be interpreted as an enhancement of

activity due to sensorial processing of the odor. However, in control animals, no increase was induced during odor presentation. The increase obtained in trained animals can therefore be ascribed to the effect of learning. As this facilitation was only observed in presence of the learned odor, its expression could be under the dependence of neuromodulators involved in this task. In particular, it is well known that locus coeruleus is activated in response to meaningful stimulus (Sara and Segal 1991), and that noradrenaline plays an important role in fear conditioning (for review, see McGaugh 2004). The piriform cortex receives noradrenergic input from the locus coeruleus (Datiche and Cattarelli 1996), and noradrenaline has been shown to modulate synaptic transmission in the piriform cortex (Hasselmo et al.1997). In a recent study carried out on anaesthetized rats (Bouret and Sara 2002), locus coeruleus stimulation was shown to enhance piriform cortex cells' responses to odors. Interestingly, the investigators reported that the proportion of stimulation-induced increase in response magnitude was higher in pPC than in aPC. In our study, locus coeruleus activation in response to the learned stressful odor could be responsible for the enhancement observed in pPC. No increase was observed in aPC in trained animals. These data bring further support to accumulating evidence that aPC and pPC seem to play different roles in memory processes (Litaudon et al. 1997, 2003; Chabaud et al. 1999, 2000; Mouly et al. 2001, Mouly and Gervais 2002). In particular, aPC would be mainly involved in sensory processes, and simple forms of short-term memory like habituation (Wilson 1998b, 2000) or perceptual learning (Wilson 2003), whereas pPC would be involved in the learning and recall of associations between odorants and information from other sensory modalities (Haberly 2001).

Transient potentiation in BLA

The increase in BLA was only significant in the presence of the CS odor. However, it must be noted that a tendency to increase was also observed during the first 2 min of the session, suggesting that some substhreshold lasting modifications might also have occurred in the BLA. The changes were nevertheless qualified as transient with regard to statistical significativity.

As for the pPC, this transient enhancement could be modulated by the release of neuromodulators upon arrival of the stressful odor. Indeed, many experiments indicate that stress hormones released during emotionally arousing experiences play a critical role in consolidating lasting memories, and that amygdala is the critical site of their action (for review, see McGaugh and Roozendaal 2002). In addition, epinephrine and glucocorticoids' effects are intimately linked to noradrenergic activation in the BLA. Noradrenaline release in the amygdala could enable long-term memory consolidation in other brain regions (McGaugh 2002, 2004). Concerning olfactory fear conditioning, a few studies have already shown that BLA is involved. Indeed, Sullivan et al. (2000) and Sullivan (2001) reported that before the age of 10 d, rat pups have difficulties in learning odor-shock aversions and attributed this deficit to the lack of a functional amygdala at this early age of life. In adult rats, Cousens and Otto (1998) showed that pre- and post-training exitotoxic lesions of the BLA abolished the expression of olfactory fear conditioning. Recently, Kilpatrick and Cahill (2003) showed that reversible inactivation of BLA following paired odor-shock presentation in rats resulted in a deficit in learning, suggesting that BLA is involved in consolidation of olfactory fear conditioning. Rosenkranz and Grace (2002) performing in vivo intracellular recordings in the BLA during acquisition of an odor fear conditioning under anesthesia in rats, demonstrated that repeated pairing of an odor with a foot-shock induced enhanced post-synaptic potential responses to the odor in neurons of the BLA, and that this modification resulted from local changes in synaptic efficacy, and was dependant on dopamine. These changes could constitute the basis of the changes observed in the present study in trained animals in the presence of the learned odor.

Lasting potentiation in CoA

The enhancement observed in CoA is expressed before introduction of the CS-odor, and is further increased in the presence of the learned odor. Interestingly, the increase during odor is statistically significant from minutes 3–8, whereas from minutes 5–8, trained and control animals exhibited statistically similar freezing behavior. This observation adds further support to the assumption that the observed changes are a consequence of the associative CS–US learning, rather than a side effect of the expression of freezing.

CoA receives a fairly dense innervation from the olfactory bulb, and in turn, sends projections to the deep nuclei of the amygdala (Swanson and Petrovich 1998). Unlike other sensory systems, olfactory information does not reach the amygdala through a thalamic input. Instead, corticomedial amygdala (including CoA) is the primary amygdaloid target of olfactory information (Price 1973; McDonald 1998). CoA sends projections to BLA and central nucleus (McDonald 1998), which have both been shown to receive nociceptive inputs (LeDoux 2000). Projections from the CoA to deep nuclei may therefore allow the CS–US association. Whether the amygdala is the final storage site of the association (LeDoux 2000), or allows the long-term consolidation of memory in other cortical sites (McGaugh 2002, 2004) is still a matter of debate. The lasting changes observed in CoA in the present study could suggest that this structure is involved in long-term storage of the association. The superficial nuclei of the amygdala (among which is CoA) have been shown to be a major source of the projections from the amygdala to the hypothalamus (Price et al. 1991), which is involved in the control of autonomic responses participating in fear behavior. Therefore, the increase in CoA following olfactory fear learning could favor the development of a rapid behavioral response in presence of the learned stressful odor.

Conclusion

The present study was the first to investigate the electrophysiological correlates of olfactory fear conditioning in behaving animals at several levels of the olfactory pathways. Our data suggest that the neural network involved in odor-shock association presents some particularities that could be linked to the uniqueness of the connections between the olfactory bulb and the amygdala. Hence, the cortical nucleus of the amygdala, which is part of the corticomedial amygdala that constitutes the primary amygdaloid target of olfactory information, could be involved in fear conditioning as far as an odor is used as the conditioned stimulus. A better knowledge of the neural circuit participating in this simple form of learning could help to understand the privileged connection between emotion and olfaction.

Materials and Methods

Experiment 1

Subjects

Twenty-four male Wistar rats (Charles River) weighing 250–300 g at the start of the experimentation served as subjects. They were housed individually, and food and water were available ad libitum. All animals were handled each day before the beginning of the experiments. Experiments were performed in accordance with the European guidelines regarding the care and use of animals for experimental procedures.

Behavioral apparatus

Conditioning cage and procedure

The cage consisted of a Plexiglas transparent cylinder (diameter, 21 cm; height, 21.5 cm) with a lateral door (Vigouroux and Royet 1981), housed in a sound-attenuating enclosure. The floor of the cage consisted of 17 stainless-steel bars, 0.5 cm in diameter, that were spaced 1 cm apart. The floor was connected to a Coulbourn shock generator which, when appropriate, delivered 0.4 mA of scrambled shock. The ceiling of the cage was perforated with a central aperture (diameter, 2 cm), which allowed the passage of recording cables when needed. In addition, the ceiling of the cage allowed the branching of three Tygon tubing connected to an olfactometer located outside of the apparatus. Deodorized air flowed constantly through the cage. At appropriate times, odor was introduced in the air stream for 10 sec. The conditioning cage was placed above a cubic Plexiglas chamber (30 × 30 × 15 cm), on which an exhaust fan was mounted, allowing a continuous evacuation of the odorant stream from the conditioning cage. Using this paradigm, odor was perceived for ~20 sec at the experimenter nose. Two odorants have been used in this experiment, Isoamylacetate and Eugenol (Sigma).

Conditioning took place in a single session. The conditioning procedure was inspired from Otto et al (1997). Rats were introduced in the conditioning cage and given 2 min of free exploration. At the third minute, Isoamylacetate (conditioned stimulus, CS) was introduced in the cage for 20 sec, the last 2 sec of which overlapped with the delivery of a 0.4-mA foot-shock (unconditioned stimulus, US). The animals received six pairings of odor and shock with an intertrial interval of 4 min. Twelve animals were trained as described above (trained group) and 12 animals received the same paradigm of odor presentation, but no shock was delivered (control group).

CS–test session

Assessment of CS-conditioned fear was performed 24 h after the conditioning session in a testing cage different from the conditioning cage, in order to avoid the influence of fear conditioned to the training context (Holland and Bouton 1999). The CS-testing cage presented the same global characteristics as the conditioning cage, but the visual and tactile environmental cues have been changed; the walls of the cage were painted with vertical black and white stripes, and the floor was a thin metallic grid.

In both trained and control groups, two subgroups of rats were made according to the testing procedure (see Fig. 1, bottom, for a summary of the testing procedures). In one subgroup (Group 1, six trained animals, six control animals), rats were introduced in the testing cage and conditioned fear was assessed in an 8-min session. During the first 2 min of testing, no odorant was present, and the rats were free to explore their environment. Isoamylacetate (CS odor) was then presented during the first 20 sec of each of the following 6 min. In the other subgroup (Group 2, six trained animals, six control animals), the rats were submitted to two test sessions. The first test session was aimed at testing whether conditioned fear was specific to the conditioning odor, or could be evoked by a different odor. Therefore, the animals were tested as above, except that they were presented a novel odor, Eugenol, qualitatively different from the CS. During the second test session carried out 24 h later, the animals were tested for their response to the learned CS, Isoamylacetate.

During the different test sessions, animals' behavior was continuously monitored with a camera connected to a video recorder for off-line analysis.

Context–test session

Assessment of conditioned fear to contextual cues was performed 24 h after the CS-test. The animals were introduced in the conditioning cage and their freezing behavior was assessed over a 6-min period. The animals' behavior was continuously monitored with the video system for off-line analysis.

Data analysis

Off-line, animal behavior recorded during the test sessions was rated using an ethological keyboard connected to a home-made software (Matlab). Freezing behavior, characterized by a crouching posture and an absence of any visible movement except that due to breathing (Blanchard and Blanchard 1969) was quantified throughout the 8-min CS-test session and the 6-min context-test session. For each minute of the session, duration of freezing behavior was expressed as a percentage of the entire minute duration.

Percentages of freezing measured throughout the test sessions were compared using a two-factor (minute as a dependant factor and group as an independent factor) analysis of variance (ANOVA), followed by Wilcoxon matched-pairs signed-ranks tests for within group comparisons, and Mann-Witney tests for between groups' comparisons. For all of the statistical comparisons performed, the significance level was set at 0.05.

Experiment 2

Subjects and surgery

Seventeen male Wistar rats (IFFA-CREDO) weighing 250–300 g at the start of the experimentation served as subjects. They were housed individually and food and water were available ad libitum. The animals were handled each day between their surgery and behavioral testing. Experiments were performed in accordance with the European guidelines regarding the care and use of animals for experimental procedures. They were anesthetized with Equithesin (a mixture of chloral hydrate and sodium pentobarbital; 3 ml/kg, i.p.). The level of anesthesia was held constant with regular injections of Equithesin throughout surgery. The animals were fixed in a stereotaxic apparatus, with the head flat and holes were drilled for implantation of one bipolar stimulating electrode in the left olfactory bulb (A/P −6 mm relative to the nasofrontal suture, L 1.3 mm relative to Bregma) and four monopolar recording electrodes positioned ipsilaterally in the aPC (A/P +2.2 mm, L 4 mm relative to Bregma), the pPC (A/P −1.8 mm, L 5.5 mm to Bregma), the CoA (A/P −2.3 mm, L: 3.3 mm relative to Bregma), and the BLA (A/P −2.8 mm, L 4.9 mm relative to Bregma). The bipolar stimulating electrodes consisted of two 100-µm stainless-steel wires (California Fine Wire) with a tip separation of 500 µm in depth. The recording electrodes consisted of single 100-µm stainless steel wires. The depth of the stimulating electrodes was adjusted at the level of mitral cell layer using electrophysiological monitoring of the characteristic large multiunit mitral cell activity. Accurate positioning of recording electrodes' depth was achieved using the field-potential profile evoked in each structure in response to electrical stimulation of the bipolar OB electrodes (Fig. 4). In aPC, pPC, and CoA, recording electrode tips were positioned in the deep cortical layers (layer III), where the field potential signal presented a large stable amplitude, which corresponded to the approximate depths of −7, −8, and −9 mm, respectively. In BLA, the recording electrode tip was positioned at an approximate depth of 7.5 mm. One skull screw placed above the contralateral parietal cortex served as a ground and reference electrode for monopolar field potential recordings. The recording and stimulating electrodes were connected to miniature sockets fixed onto the rat's head by dental cement. The animals were allowed 2 wk of post-surgical recovery.

Stimulating and recording procedures

Electrical stimulation used to induce evoked field potentials (EFPs) was delivered through a Master-8 stimulator (AMPI,) and a photically isolated constant current unit. The electrical stimulus was a single monophasic square pulse, 0.2 msec in duration, 0.2 Hz in frequency. Stimulation intensity (200–400 µA) was set to induce a response amplitude of ~70% of maximum as determined from the baseline input–output curves. Each acquisition episode consisted of collecting 12 sweeps in parallel, through the four recording electrodes, in response to stimulation of the OB electrode. The signals induced in the four recording sites (Fig. 3B) were displayed on two oscilloscopes, amplified (Grass Model 12, Astro-Med, Inc.), filtered (1–300 Hz), and digitized (sampling frequency, 5 kHz) using a data acquisition system (Wavebook 512, Iotech, Inc.) for storage on a computer hard disk.

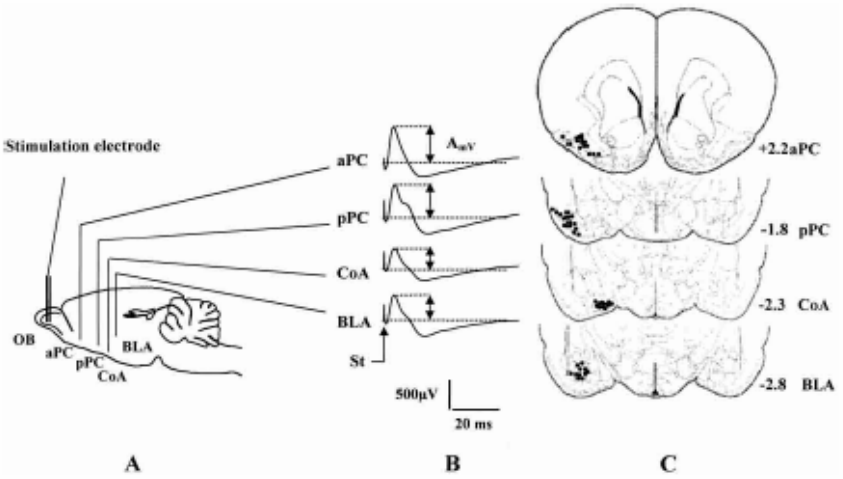


Figure 4. Schematic representation of the implanted electrodes and recorded evoked field-potential (EFPs) signals. (*A*) A bipolar stimulation electrode was implanted in the mitral cell layer of the olfactory bulb (OB). Four monopolar recording electrodes were respectively implanted in the anterior piriform cortex (aPC), posterior piriform cortex (pPC), cortical nucleus of the amygdala (CoA), and basolateral amygdala (BLA). (*B*) An example of EFPs induced in the four recording sites in response to electrical stimulation of the OB. The amplitude (A_{mV}) of the evoked main component was measured in each site, as indicated on the figure. (St) Stimulation artifact. (*C*) Schematic drawing representing recording electrodes' tip placements. Numbers on the *right* indicate position of the coronal sections in millimeter relative to bregma (Paxinos and Watson 1998).

Procedure

Baseline recording

Baseline recording of field potentials was established over a 4-d period, with one recording session per day. The rat was placed in the testing cage (see Materials and Methods, Experiment 1). Recording and stimulating cables were relayed at the top of the cage through a multichannel swiveling electrical connector. The recording cable contained a 5-channel JFET headstage in order to reduce movement artifacts.

The first two sessions were aimed at establishing input–output curves. During these sessions, stimulation intensity was varied from 100 to 700 µA. For each rat, the intensity inducing a response around 70% of the maximum was determined and used for the subsequent recording sessions. The two last sessions were aimed at collecting baseline preconditioning signals.

Conditioning

Twenty-four hours after the last baseline recording session, the rats were assigned to two groups as follows: the trained group ($n = 9$) and the control group ($n = 8$). In the trained group, the rats were placed in the conditioning cage and received six pairings of Isoamylacetate and foot-shock as described above (see Materials and Methods, Experiment 1). In the control group, the rats received the same number of Isoamylacetate presentations, but no foot-shock was delivered. No recording was carried out during the conditioning session.

CS–test session

Twenty-four hours after the conditioning session, the animals of both groups were introduced in the CS-testing cage (see Materials and Methods, Experiment 1), connected to the recording apparatus, and tested for their behavioral response to the repeated presentation of Isoamylacetate as described above. In parallel, during the 8-min duration of the session, EFP signals were continuously collected in the four recording sites.

Context–test session

Twenty-four hours after the CS-test session, the animals of both groups were introduced in the conditioning cage (see Materials and Methods, Experiment 1) and tested for their behavioral response to contextual cues.

Data analysis

Behavioral data

Percentages of freezing were measured throughout the CS and context test sessions as described in Experiment 1, and compared using a two-factor (minute as a dependant factor and group as an independent factor) analysis of variance (ANOVA), followed by Wilcoxon matched-pairs, signed-ranks tests for within group comparisons, and Mann-Whitney tests for between groups' comparisons. For all of the statistical comparisons performed, the significance level was set at 0.05.

Electrophysiological data

EFPs were analyzed using the data acquisition software Dasylab (Iotech, Inc.). Offline, the individual traces collected during each baseline session (12 sweeps) were averaged, thus resulting in a mean baseline signal for each recording site. During the 8-min CS-test session, two kinds of analyses were carried out. First, the individual traces collected during each minute (12 sweeps) of the test session were averaged per minute, which led to eight mean EFPs (one per minute) for each recording site. Second, the mean signals obtained for the first 2 min (pre-odor period) and the mean signals obtained for the last 6 min (odor-period) were pooled separately. In each recording site, the peak amplitude of the main positive component of the mean EFP was measured as illustrated in Figure 4B. The peak amplitudes obtained during the CS-test session were expressed as percentages of the baseline values collected before learning. For each recording site, the data were compared using a two-factor (group as an independent factor and minute as a dependant factor) analysis of variance (ANOVA), followed by Wilcoxon matched-pairs, signed-ranks tests for within group comparisons, and Mann-Whitney tests for between groups' comparisons. For all of the statistical comparisons performed, the significance level was set at 0.05.

Histology

At the end of the experiment, rats were injected with a lethal dose of pentobarbital. Brains were dissected and stored in a 10% formalin solution for 1 wk, after which brains were cut into 80-µm slices and stained with cresyl violet. For each rat, the position of each recording electrode was determined using Paxinos and Watson's (1998) stereotaxic atlas (Fig. 4C).

Acknowledgments

We gratefully acknowledge Jean-Luc Charieau for taking care of the animals and Hassen Slimani for technical support, as well as Lionel Augeul for his help during the pilot behavioral experiments. We also warmly thank Dr. Regina Sullivan and Tania Roth for a careful review of the English.

References

Baldi, E., Lorenzini, C.A., and Bucherelli, C. 2004. Footshock intensity and generalization in contextual and auditory-cued fear conditioning in the rat. *Neurobiol. Learn. Mem.* **81:** 162–166.

Blanchard, R.J. and Blanchard, D.C. 1969. Crouching as an index of fear. *J. Comp. Physiol. Psychol.* **67:** 370–375.

Bouret, S. and Sara, S.J. 2002. Locus coeruleus activation modulates firing rate and temporal organization of odor-induced single-cell responses in rat piriform cortex. *Eur. J. Neurosci.* **16:** 2371–2382.

Chabaud, P., Ravel, N., Wilson, D.A., and Gervais, R. 1999. Functional coupling in rat central olfactory pathways: A coherence analysis. *Neurosci. Lett.* **276:** 17–20.

Chabaud, P., Ravel, N., Wilson, D.A., Mouly, A.M., Vigouroux, M., Farget, V., and Gervais, R. 2000. Exposure to behaviorally relevant

odor reveals differential characteristics in rat central olfactory pathways as studied through oscillatory activities. *Chem. Senses* **25:** 561–573.

Cousens, G. and Otto, T. 1998. Both pre- and post-training excitotoxic lesions of the basolateral amygdala abolish the expression of olfactory and contextual fear conditioning. *Behav. Neurosci.* **112:** 1092–1103.

Datiche, F. and Cattarelli, M. 1996. Catecholamine innervation of the piriform cortex: A tracing and immunohistochemical study in the rat. *Brain. Res.* **710:** 69–78.

Desmedt, A., Garcia, R., and Jaffard, R. 2003. An 8-day extensive elemental, but not contextual, fear conditioning potentiates hippocampal-lateral septal synaptic efficacy in mice. *Synapse* **49:** 270–278.

Doyère, V., Redini-Del Negro, C., Dutrieux, G., Le Floch, G., Davis, S., and Laroche, S. 1995. Potentiation or depression of synaptic efficacy in the dentate gyrus is determined by the relationship between the conditioned and unconditioned stimulus in a classical conditioning paradigm in rats. *Behav. Brain. Res.* **70:** 15–29.

Funk, D. and Amir, S. 2000. Enhanced fos expression within the primary olfactory and limbic pathways induced by an aversive conditioned odor stimulus. *Neuroscience* **98:** 403–406.

Goosens, K.A., Hobin, J.A., and Maren, S. 2003. Auditory-evoked spike firing in the lateral amygdala and Pavlovian fear conditioning: Mnemonic code or fear bias? *Neuron* **40:** 1013–1022.

Haberly, L.B. 1973. Summed potentials evoked in opossum prepyriform cortex. *J. Neurophysiol.* **36:** 775–788.

———. 2001. Parallel-distributed processing in olfactory cortex: New insights from morphological and physiological analysis of neuronal circuitry. *Chem. Senses* **26:** 551–576.

Hasselmo, M.E., Linster, C., Patil, M., Ma, D., and Cekic, M. 1997. Noradrenergic suppression of synaptic transmission may influence cortical signal-to-noise ratio. *J. Neurophysiol.* **77:** 3326–3339.

Herry, C., Vouimba, R.M., and Garcia, R. 1999. Plasticity in the mediodorsal thalamo-prefrontal cortical transmission in behaving mice. *J. Neurophysiol.* **82:** 2827–2832.

Herzog, C. and Otto, T. 1997. Odor-guided fear conditioning in rats: 2. Lesions of the anterior perirhinal cortex disrupt fear conditioned to the explicit conditioned stimulus but not to the training context. *Behav. Neurosci.* **111:** 1265–1272.

Holland, P.C. and Bouton, M.E. 1999. Hippocampus and context in classical conditioning. *Curr. Opin. Neurobiol.* **9:** 195–202.

Ketchum, K.L. and Haberly, L.B. 1993. Membrane currents evoked by afferent fiber stimulation in rat piriform cortex. I. Current source-density analysis. *J. Neurophysiol.* **69:** 248–260.

Kilpatrick, L. and Cahill, L. 2003. Modulation of memory consolidation for olfactory learning by reversible inactivation of the basolateral amygdala. *Behav. Neurosci.* **117:** 184–188.

Krettek, J.E. and Price, J.L. 1978. A description of the amygdaloid complex in the rat and cat with observations on intra-amygdaloid axonal connections. *J. Comp. Neurol.* **178:** 255–280.

LeDoux, J.E. 2000. Emotion circuits in the brain. *Annu. Rev. Neurosci.* **23:** 155–184.

Litaudon, P., Mouly, A.M., Sullivan, R., Gervais, R., and Cattarelli, M. 1997. Learning-induced changes in rat piriform cortex activity mapped using multisite recording with voltage sensitive dye. *Eur. J. Neurosci.* **9:** 1593–1602.

Litaudon, P., Amat, C., Bertrand, B., Vigouroux, M., and Buonviso, N. 2003. Piriform cortex functional heterogeneity revealed by cellular responses to odours. *Eur. J. Neurosci.* **17:** 2457–2461.

Luskin, M.B. and Price, J.L. 1983. The topographic organization of associational fibers of the olfactory system in the rat, including centrifugal fibers to the olfactory bulb. *J. Comp. Neurol.* **216:** 264–291.

Maren, S. 2001. Neurobiology of Pavlovian fear conditioning. *Annu. Rev. Neurosci.* **24:** 897–931.

Martin, S.J. and Morris, R.G. 2002. New life in an old idea: The synaptic plasticity and memory hypothesis revisited. *Hippocampus* **12:** 609–636.

McDonald, A.J. 1998. Cortical pathways to the mammalian amygdala. *Prog. Neurobiol.* **55:** 257–332.

McGaugh, J.L. 2002. Memory consolidation and the amygdala: A systems perspective. *Trends Neurosci.* **25:** 456.

———. 2004. The amygdala modulates the consolidation of memories of emotionally arousing experiences. *Annu. Rev. Neurosci.* **27:** 1–28.

McGaugh, J.L. and Roozendaal, B. 2002. Role of adrenal stress hormones in forming lasting memories in the brain. *Curr. Opin. Neurobiol.* **12:** 205–210.

McNamara, A.M., Cleland, T.A., and Linster, C. 2004. Characterization of the synaptic properties of olfactory bulb projections. *Chem. Senses* **29:** 225–233.

Moriceau, S., Roth, T.L., Okotoghaide, T., and Sullivan, R.M. 2004. Corticosterone controls the developmental emergence of fear and amygdala function to predator odors in infant rat pups. *Int. J. Dev. Neurosci.* **22:** 415–422.

Moser, E., Mathiesen, I., and Andersen, P. 1993. Association between brain temperature and dentate field potentials in exploring and swimming rats. *Science* **259:** 1324–1326.

Mouly, A.M., and Gervais, R. 2002. Polysynaptic potentiation at different levels of rat olfactory pathways following learning. *Learn. Mem.* **9:** 66–75.

Mouly, A.M., Fort, A., Ben-Boutayab, N., and Gervais, R. 2001. Olfactory learning induces differential long-lasting changes in rat central olfactory pathways. *Neuroscience* **102:** 11–21.

Ottersen, O.P. 1982. Connections of the amygdala of the rat. IV: Corticoamygdaloid and intraamygdaloid connections as studied with axonal transport of horseradish peroxidase. *J. Comp. Neurol.* **205:** 30–48.

Otto, T., Cousens, G., and Rajewski, K. 1997. Odor-guided fear conditioning in rats: 1. Acquisition, retention, and latent inhibition. *Behav. Neurosci.* **111:** 1257–1264.

Otto, T., Cousens, G., and Herzog, C. 2000. Behavioral and neuropsychological foundations of olfactory fear conditioning. *Behav. Brain Res.* **110:** 119–128.

Paschall, G.Y. and Davis, M. 2002. Olfactory-mediated fear-potentiated startle. *Behav. Neurosci.* **116:** 4–12.

Paxinos, G. and Watson, C. 1998. *The rat brain in stereotaxic coordinates.* Fourth edition, Academic Press, San Diego, CA.

Price, J.L. 1973. An autoradiographic study of complementary laminar patterns of termination of afferent fibers to the olfactory cortex. *J. Comp. Neurol.* **150:** 87–108.

Price, J.L., Slotnick, B.M., and Revial, M.F. 1991. Olfactory projections to the hypothalamus. *J. Comp. Neurol.* **306:** 447–461.

Richardson, R., Vishney, A., and Lee, J. 1999. Conditioned odor potentiation of startle in rats. *Behav. Neurosci.* **113:** 787–794.

Richardson, R., Tronson, N., Bailey, G.K., and Parnas, A.S. 2002. Extinction of conditioned odor potentiation of startle. *Neurobiol. Learn. Mem.* **78:** 426–440.

Rogan, M.T., Staubli, U.V., and LeDoux, J.E. 1997. Fear conditioning induces associative long-term potentiation in the amygdala. *Nature* **390:** 604–607.

Rosenkranz, J.A. and Grace, A.A. 2002. Dopamine-mediated modulation of odour-evoked amygdala potentials during pavlovian conditioning. *Nature* **417:** 282–287.

Sara, S.J. and Segal, M. 1991. Plasticity of sensory responses of locus coeruleus neurons in the behaving rat: Implications for cognition. *Prog. Brain. Res.* **88:** 571–585.

Savander, V., LeDoux, J.E., and Pitkanen, A. 1996. Topographic projections from the periamygdaloid cortex to select subregions of the lateral nucleus of the amygdala in the rat. *Neurosci. Lett.* **211:** 167–170.

Schettino, L.F. and Otto, T. 2001. Patterns of Fos expression in the amygdala and ventral perirhinal cortex induced by training in an olfactory fear conditioning paradigm. *Behav. Neurosci.* **115:** 1257–1272.

Slotnick, B. 2001. Animal cognition and the rat olfactory system. *Trends Cogn. Sci.* **5:** 216–222.

Sullivan, R.M. 2001. Unique characteristics of neonatal classical conditioning: The role of the amygdala and locus coeruleus. *Int. Physiol. Behav. Sci.* **36:** 293–307.

Sullivan, R.M., Landers, M., Yeaman, B., and Wilson, D.A. 2000. Good memories of bad events in infancy. *Nature* **407:** 38–39.

Swanson, L.W. and Petrovich, G.D. 1998. What is the amygdala? *Trends Neurosci.* **21:** 323–331.

Tang, J., Wotjak, C.T., Wagner, S., Williams, G., Schachner, M., and Dityatev, A. 2001. Potentiated amygdaloid auditory-evoked potentials and freezing behavior after fear conditioning in mice. *Brain Res.* **919:** 232–241.

Tang, J., Wagner, S., Schachner, M., Dityatev, A., and Wotjak, C.T. 2003. Potentiation of amygdaloid and hippocampal auditory-evoked potentials in a discriminatory fear-conditioning task in mice as a function of tone pattern and context. *Eur. J. Neurosci.* **18:** 639–650.

Vigouroux, M. and Royet, J.P. 1981. An olfactometric cage suitable for short duration stimulations of unrestrained small animals. *J. Neurosci. Methods* **4:** 189–196.

Wilson, D.A. 1998a. Synaptic correlates of odor habituation in the rat anterior piriform cortex. *J. Neurophysiol.* **80:** 998–1001.

———. 1998b. Habituation of odor responses in the rat anterior piriform cortex. *J. Neurophysiol* **79:** 1425–1440.

———. 2000. Comparison of odor receptive field plasticity in the rat olfactory bulb and anterior piriform cortex. *J. Neurophysiol.* **84:** 3036–3042.

———. 2003. Rapid, experience-induced enhancement in odorant discrimination by anterior piriform cortex neurons. *J. Neurophysiol.* **90:** 65–72.

Received July 13, 2004; accepted in revised form October 5, 2004.

4.5. Bilan des résultats

4.5.1. Première expérience: Comportement

4.5.1.1. Mise au point du protocole expérimental

Premièrement, dans nos conditions expérimentales, l'apprentissage de peur conditionnée à l'odeur d'acétate d'isoamyle (banane) a été possible. En effet, par rapport aux animaux témoins n'ayant été exposés qu'à l'odeur seule, les animaux ayant subi six associations avec des chocs électriques aux pattes au cours de la séance de conditionnement montrent un comportement d'immobilité significativement supérieur lors de la présentation du SC odorant seul au cours de la séance de test 24 heures plus tard dans une cage différente. L'absence d'immobilité au cours des deux premières minutes précédant l'introduction de l'odeur dans la cage exclut l'hypothèse d'un apprentissage du contexte de conditionnement qui aurait pu être généralisé au contexte de test. Au contraire, ce comportement reflète que les rats ont été capables de créer un lien causal entre l'odeur et les chocs. Ils ont pu attribuer à cette dernière un lien de prédictibilité de l'arrivée des chocs électriques aux pattes et montrent donc une peur conditionnée lors de son introduction dans la cage.

4.5.1.2. Test de spécificité de l'apprentissage

Dans cette expérience, des rats conditionnés avec de l'acétate d'isoamyle ont été testés avec une nouvelle odeur lors de la séance de test, l'eugénol. Ces animaux ont montré que l'apprentissage du SC est relativement spécifique: en effet, au cours des six présentations de l'eugénol, ces animaux montrent un taux d'immobilité qui, s'il est supérieur à celui des animaux témoins lors des trois premières présentations, est moins élevé que celui montré en réponse à de l'acétate d'isoamyle lors des cinq dernières présentations. En d'autres mots, le comportement d'immobilité est moindre que celui observé en présence de l'odeur qui a servi de SC et s'éteint beaucoup plus rapidement.

D'un point de vue éthologique, ces résultats peuvent être interprétés de la sorte: lors du conditionnement, les animaux sont exposés pour la première fois à une odeur inconnue, l'acétate d'isoamyle, qui se trouve associée à des chocs électriques aversifs aux pattes. Le lendemain, dans une nouvelle cage, ils sont à nouveau exposés à une nouvelle odeur, l'eugénol cette fois. Lors des trois premières présentations, l'immobilité observée reflète sans doute le fait qu'ils s'attendent peut-être à recevoir des chocs aux pattes mais comme cette odeur n'a pas le caractère de prédictibilité qu'a l'acétate d'isoamyle, le comportement de peur est moins prononcé. Par la suite, comme elle n'est jamais renforcée par des chocs, ils apprennent rapidement qu'elle ne représente pas de danger et éteignent donc rapidement ce comportement.

4.5.2. Deuxième expérience: électrophysiologie

Nous avons mis en évidence, au cours de la séance de test, que l'apprentissage de PCO s'accompagne de modifications dans la transmission synaptique au sein du réseau de structures enregistrées. Ces modifications sont de deux sortes:

Tout d'abord, il existe des modifications durables dans la transmission synaptique entre le BO et l'ACo puisqu'on a mis en évidence une augmentation significative de l'amplitude des potentiels évoqués dans cette structure lors des deux premières minutes sans odeur dans la cage.

Ensuite, nous avons mis en évidence des augmentations d'amplitude transitoires, uniquement observées en présence de l'odeur dans la cage, dans le CPp, le BLA et l'ACo. Dans le CPa, à aucun moment n'a été observée de différence significative de l'amplitude des potentiels évoqués.

Ces données apportent une nouvelle preuve expérimentale de la différence fonctionnelle entre CPa et CPp dans les processus mnésiques. Par ailleurs, cette étude est la première à mettre en évidence un rôle clair du cortex piriforme dans l'apprentissage de PCO. En ce sens, nos résultats se rapprochent de ceux de Funk et Amir (2000) qui avaient mis en évidence l'activation du cortex piriforme lors du test de rappel de l'apprentissage.

Concernant l'amygdale, comme nous l'avions supposé, l'ACo semble avoir un rôle important dans cet apprentissage puisque des modifications de la transmission synaptique sont décelables avant même l'introduction du SC dans la cage lors du test de rappel. Cette étude est

la première à montrer l'implication de ce noyau au cours de cet apprentissage. Par ailleurs, le BLA semble jouer un rôle dans le traitement mnésique du stimulus conditionnel lorsque celui-ci est représenté à l'animal, comme cela a maintes fois été démontré dans des conditionnements de peur non olfactifs mais beaucoup moins dans les conditionnements de peur à l'odeur.

4.5.3. Conclusions

Cette première étude laisse à penser que les particularités anatomiques mises en évidence dans la modalité olfactive impliquent des particularités fonctionnelles. Ainsi, selon la modalité étudiée, les circuits de peur pourraient être différents.

Ici, les phénomènes de PLT observés dans différentes structures indiquent qu'elles sont probablement impliquées dans la mise en mémoire à long terme de l'information. Cependant, ces résultats ne sont que des corrélats de l'apprentissage. Pour savoir si ces structures ont réellement un rôle fonctionnel, des études de lésions ou d'inactivations temporaires à différents moments de l'apprentissage (acquisition, consolidation, rappel, extinction) seraient nécessaires.

Une petite transition…

Ainsi s'achève le premier axe de recherche de cette thèse. Nous voulûmes pousser plus avant la connaissance des mécanismes sous-tendant l'apprentissage de peur conditionnée à l'odeur chez l'adulte, nous ne fûmes pas déçus.

La suite, elle résulte des aléas, des opportunités. Rien n'était écrit et pourtant, ce fut. Au cours de ma thèse, j'ai eu la possibilité de mener une collaboration avec le Docteur Regina Sullivan de l'Université d'Oklahoma, à Norman aux Etats-Unis. Elle et ses collaborateurs s'intéressent depuis près de vingt ans aux mécanismes qui sous-tendent les phénomènes d'attachement du jeune à sa mère en utilisant le rat comme modèle d'étude. Par exemple, comment un raton au contact de sa mère va apprendre à préférer l'odeur de celle qui le nourrit, le réchauffe et le protège? Le raton a besoin de sa mère pour survivre, pour cela, il apprend des comportements d'approche vers elle. Grâce aux travaux de cette équipe (et d'autres !), les mécanismes qui expliquent l'attachement du raton à sa mère commencent doucement à être élucidés.

Quel rapport avec mes travaux me direz vous? Et bien il est très simple. Le Docteur Sullivan et ses collègues ont montré qu'en bas âge, les ratons soumis à un conditionnement odeur-chocs apprennent à préférer cette odeur, contrairement aux adultes qui apprennent à la fuir comme la peste (sans mauvais jeu de mots, les rats ayant longtemps été des vecteurs de ce virus, mais il s'agit là d'une autre histoire). Cette caractéristique intéressante a amené le sujet de cette collaboration: est ce que l'association odeur-chocs acquise en bas âge peut modifier l'apprentissage de peur conditionnée à l'odeur chez l'adulte? L'apprentissage normal vu au cours de la Problématique 1 va-t-il être perturbé par une expérience précoce?

Je vous propose d'y répondre. Mais tout d'abord, voyons plus précisément ce que l'on sait des apprentissages en bas age et leurs conséquences à long terme.

Chapitre 5

Effet des expériences précoces sur le comportement adulte

Les expériences que nous vivons au cours de notre petite enfance ne sont pas sans influences sur le développement normal de nombreuses structures cérébrales, encore immatures à la naissance. Dans ce chapitre, nous étudierons les effets d'expériences aversives chez le raton nouveau-né sur ses comportements émotionnels à l'âge adulte, ce qui nous conduira à notre deuxième axe de recherche qui a consisté à évaluer les effets à long terme d'une expérience néonatale (association odeur-chocs) sur le comportement de PCO à l'âge adulte. Plus précisément, nous chercherons à savoir si une expérience néonatale d'un conditionnement d'association odeur-chocs modifie le comportement à l'âge adulte au cours d'un même conditionnement.

Toutefois, certaines caractéristiques des apprentissages néonataux ne peuvent s'expliquer qu'en prenant en compte certains traits éthologiques de l'animal. Dans un premier temps, voyons les différentes périodes post-natales.

5.1. Les périodes sensible et post-sensible chez le rat

5.1.1. La période sensible

Le terme de période sensible s'applique à chaque fois que les effets d'une expérience sur le cerveau (et donc le comportement) sont particulièrement forts, *au cours d'une fenêtre temporelle limitée* (Knudsen, 2004). Au cours de ce chapitre, ce terme sera attribué pour les dix premiers jours de vie du raton, au cours desquels ils montrent des caractéristiques tout à fait particulières d'apprentissage, comme nous le verrons (Sullivan, 2001).

5.1.1.1. Caractéristiques morpho-comportementales

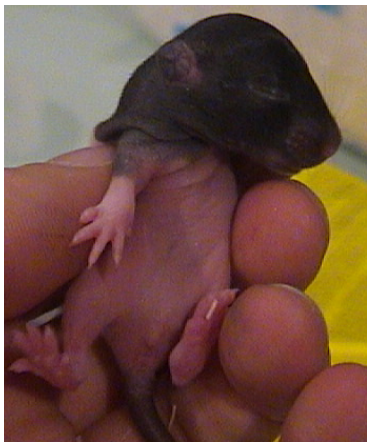


Figure 5.1 Photo d'un raton de neuf jours

Lors de la première semaine et demie de vie, les ratons sont aveugles et sourds, leurs yeux sont fermés et leurs oreilles sont collées (voir Figure 5.1). Ces animaux ont donc une perception sensorielle de leur monde extrêmement limitée, par les systèmes somatosensoriel, gustatif et olfactif. Dès leur tout jeune âge, le système somatosensoriel, plus particulièrement leurs vibrisses, est fonctionnel et important dans leur survie (Landers et Sullivan, 1999a). Par ailleurs, leur système olfactif est très développé, ce qui leur permet de détecter les mamelles de leur mère pour la tétée (pour revue, voir Moriceau et Sullivan, 2005; Sullivan, 2001, 2003). En revanche, les capacités motrices de l'animal sont extrêmement limitées et ne lui permettent pas de s'éloigner du nid, tout juste peut-il se mouvoir jusqu'à la mère. De plus, comme on peut le voir sur la Figure 5.1, les ratons n'ont pas de poils, ils ne sont donc pas capables de maintenir une homéothermie normale. L'ensemble de ces caractéristiques fait que, du premier au neuvième jour post-natal environ (PN0 à PN9), les ratons sont confinés dans le nid et passent le plus clair de leur temps à téter et à recevoir des soins de leur mère (Bolles et Woods, 1965).

5.1.1.2. Caractéristiques neuroendocriniennes: période d'hyporéponse au stress

Cette période correspond également à la *période d'hyporéponse au stress* (Lévine, 2001, 2002). En effet, au cours de la période sensible, le niveau d'hormones de stress circulantes est très bas et, à la différence de l'adulte, un stress chez le raton n'entraîne pas de pic de sécrétion. Ainsi, administrer un choc électrique chez le raton n'a pas de conséquences sur le taux d'hormones de stress circulantes (Levine, 1962). Cependant, la qualité des interactions qu'a la mère avec ses petits influence cette concentration circulante. Or, l'une des cibles principales de l'action des hormones de stress est le développement de l'axe corticotrope ou axe hypothalamus/tige pituitaire de l'hypophyse/glandes corticosurrénales (axe HPC).

Chez l'adulte, l'axe HPC permet de moduler la réponse au stress. Un stress active l'hypothalamus qui sécrète une hormone de stress: la corticolibérine (ou facteur de sécrétion de la corticotropine ou CRH pour *corticotropin releasing hormon*). Cette hormone entraîne en cascade la sécrétion par l'hypophyse de l'hormone adrénocorticotrope ou adrénocorticotropine (ACTH) qui active les glandes corticosurrénales qui sécrètent des glucocorticoïdes, notamment la corticostérone (CORT) (voir Figure 5.2). Cette dernière hormone a un rôle de rétrocontrôle négatif sur l'ensemble des libérations endocriniennes en amont. L'activation de cet axe corticotrope qui aboutit à la sécrétion de CORT permet de médier une partie des effets facilitateurs des émotions sur la qualité de l'encodage de l'information, notamment par ses effets sur l'amygdale (pour revue, voir Cahill, 2000; Levine, 2002; Lupien et McEwen, 1997).

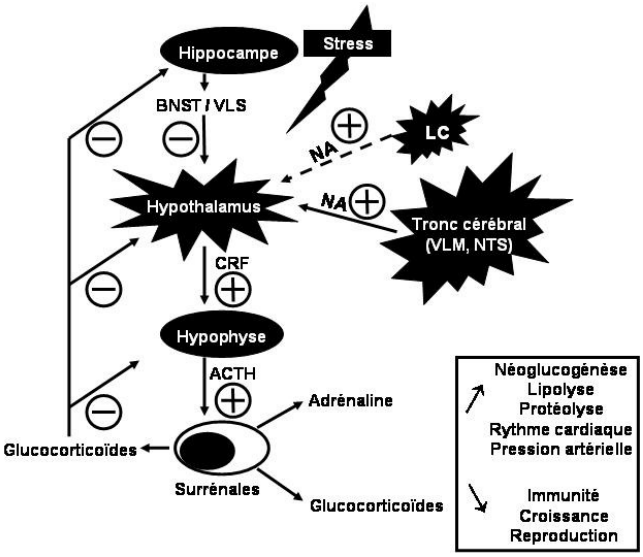


Figure 5.2 Schéma de l'axe corticotrope
LC = locus coeruleus
VLM = médulla ventrolatérale du tronc cérébral
NTS = noyau du tractus solitaire
BNST = noyau du lit de la strie terminale
VLS = septum (système limbique)
CRF = corticolibérine (corticotropin releasing factor)
ACTH = corticostimuline (adrenocorticotropin hormone)
+ = rétrocontrôle positif
- = rétrocontrôle négatif

5.1.1.3. Caractéristiques neuroanatomiques

La période sensible se caractérise également par le fait que nombre de structures cérébrales ne sont pas encore matures ni fonctionnelles. Parmi elles, l'amygdale, structure primordiale chez l'adulte dans les conditionnements de peur, n'est qu'un amas de cellules, sans distinction anatomique nette avant PN7. A cet âge, le BL ainsi que le LA ventromédian sont formés. En revanche, le LA dorsolatéral continue de se développer jusqu'à PN14, soit largement après la fin de la période sensible (Berdel, Morys et Maciejewska, 1997). Les différents noyaux de l'amygdale finissent complètement leur maturation entre PN10 et PN30 (Mizukawa, Tseng et Otsuka, 1989). Aussi, les apprentissages dépendants de l'amygdale ne

sont pas possibles avant la fin de la période sensible (pour revue, voir Myslivecek, 1997). Par ailleurs, certaines peurs inconditionnées qui nécessitent l'amygdale chez l'adulte (pour revue, voir Rosen, 2004) n'apparaissent pas avant PN10. C'est le cas de certaines odeurs utilisées comme des éléments de stress naturels, telles celles de chat ou de renard ou celle des mâles adultes. En effet, dans la nature, les femelles qui allaitent ne peuvent pas être fécondées à nouveau avant le sevrage des jeunes. Pour se reproduire, les mâles vont donc tuer les jeunes afin de pouvoir féconder la femelle et s'assurer que les petits qu'elle allaite sont les leurs. Les jeunes ont donc une peur naturelle des mâles. Mais cette fonction n'émerge que vers PN10 avec la maturation de l'amygdale (Moriceau, Roth, Okotoghaide et Sullivan, 2004; Wiedenmayer et Barr, 1998).

Le cortex frontal, essentiellement impliqué dans les phases d'extinction chez l'adulte (pour revue, voir Garcia, 2002), n'est également pas mature. En effet, les connexions entre cette structure et l'amygdale ne sont pas matures avant PN12 (Verwer, Van Vulpen et Van Uum, 1996). Une autre structure corticale, le cortex somatosensoriel qui est important dans le traitement de l'information sensorielle des vibrisses des adultes, n'est pas impliqué dans les apprentissages néonataux très précoces. En effet, lorsqu'une stimulation des vibrisses à l'aide d'un pinceau est associée à de l'air chaud (renforcement positif) avant PN8, l'animal est capable d'apprendre ce conditionnement mais sans activation de ce cortex (méthode de 2-DG) alors que le même conditionnement après PN8 implique cette structure dans l'apprentissage (Landers et Sullivan, 1999b).

Par ailleurs, la formation hippocampique n'est pas complètement mature. L'hippocampe atteint sa fonctionnalité adulte vers PN21, ce qui correspond au moment du sevrage (Stanton, 2000). Ainsi, à PN18, les animaux montrent des déficits d'apprentissage de peur conditionnée au contexte, qui dépend de l'hippocampe (Rudy, 1993; Rudy et Morledge, 1994). Par ailleurs, à PN11, à peine 5% du nombre de synapses entre le cortex entorhinal et le gyrus denté sont formées. De PN4 à PN11, il existe une synaptogénèse importante au sein de cette structure hippocampique (Crain, Cotman, Taylor et Lynch, 1973). Ainsi, avant PN15, les apprentissages dépendants de l'hippocampe ne sont pas possibles pour les ratons (Green et Stanton, 1989).

Pour résumer, ces données montrent à quel point le cerveau d'un raton est différent de celui d'un adulte. Les structures classiquement décrites comme étant impliquées dans les différents processus d'un conditionnement de peur (apprentissage du SC, du contexte ou extinction du conditionnement) ne sont pas fonctionnelles. Les apprentissages chez le raton se font donc via d'autres structures.

Cependant, dans la nature, au cours de la période sensible, le nombre de stimuli auxquels les ratons vont pouvoir être confrontés sont limités: les contacts et les odeurs de la mère, des frères et des sœurs et du nid, le goût du lait et quelques autres goûts et odeurs seront probablement les seuls. Et le traitement de ces informations se fait avec un cerveau immature. Pour survivre, les ratons doivent donc être capables d'apprendre rapidement un comportement d'approche vers la mère. D'un point de vue écologique, on comprend aisément que quels que soient les soins reçus par la mère, les ratons ne peuvent pas s'en éloigner sans risque de mourir. En d'autres termes, tant que leur mère représente leur unique monde, les ratons en ont un besoin vital. Et ce, qu'elle soit très maternelle avec eux (elle passe beaucoup de temps à les lécher, les nettoyer…) ou au contraire qu'elle leur montre des comportements agressifs (il lui arrive de leur marcher dessus, les mordre, les attraper et les jeter loin d'elle…). Comme nous allons le voir, ce besoin vital quelle que soit la qualité des soins reçus, n'est pas sans conséquences sur les apprentissages effectués au cour de cette période sensible: les ratons sont, sauf cas particuliers, incapables d'apprendre des aversions mais capables d'apprentissages appétitifs très puissants et robustes.

5.1.2. La période post-sensible

Figure 5.3 Photo d'un rat de treize jours

A partir de PN10, des modifications morphologiques s'accompagnent de modifications comportementales. Les yeux du raton s'ouvrent et les oreilles se décollent (voir Figure 5.3): ainsi, le monde sensoriel dans lequel évolue l'animal est le même que celui des adultes. A cet âge, d'un point de vue strictement morphologique, on n'a donc plus vraiment à faire à un raton mais plutôt à un jeune adulte. En parallèle, l'animal a acquis un pelage, élément indispensable pour assurer une homéothermie et ses capacités motrices se sont grandement développées, il est maintenant capable de courir, grimper, sauter et se faufiler un peu partout, comme un rat qui se respecte. De fait, il va pouvoir commencer à se mouvoir hors du nid (Bolles et Wood, 1965) et qui dit s'aventurer dans le monde, dit aller aux devants de dangers qui peuvent s'avérer mortels. A ces changements morphologiques et

comportementaux s'ajoutent donc des changements neurobiologiques. La période d'hyporéponse au stress se termine, c'est-à-dire que l'animal montre des réponses aux stress qui sont les mêmes que chez les adultes, notamment des pics de sécrétion d'hormones de stress. En parallèle, l'amygdale, l'hippocampe et le cortex frontal finissent leur maturation et deviennent fonctionnels, ce qui fait que les réseaux cérébraux qui permettent à l'animal d'émettre des comportementaux adaptés aux différentes situations se développent. Le jeune rat, devenu plus mobile, possède donc maintenant des systèmes d'apprentissages qui lui permettent de faire face à tous les stimuli de son nouvel environnement, hautement plus complexe que celui du nid. Il est maintenant capable d'apprendre facilement des aversions (Moriceau et Sullivan, 2005).

Cette période ne porte pas de véritable nom officiel mais pour clarifier mon discours ultérieur, je l'appellerai *période post-sensible*. On peut considérer qu'elle dure jusqu'à environ PN21 puisque entre PN10 et PN21, l'animal est autonome, s'aventure hors du nid mais n'est pas complètement sevré. Il revient donc fréquemment dans le nid pour la tétée. Cependant, dès PN15, sa nourriture devient mixte puisqu'il continue de boire le lait de sa mère mais commence déjà à se sustenter par des aliments solides dont se nourrissent également les adultes (observations personnelles).

5.2. Apprentissages associatifs au cours de la période sensible

Dès les premières heures de vie, les ratons sont capables d'effectuer des apprentissages associatifs très forts. Nous allons voir que, sauf cas particuliers, les animaux semblent *programmés* pour apprendre des préférences conditionnées.

5.2.1. Le conditionnement pavlovien au cours de la période sensible: quelques caractéristiques

Expérimentalement, il est possible de tester les capacités d'apprentissage au cours des périodes sensible et post-sensibles. Pour cela, le conditionnement de Pavlov est le modèle de

choix puisque l'animal est encore trop immature pour pouvoir effectuer des apprentissages plus élaborés.

Comme les systèmes sensoriels matures au cours de la période sensible sont limités, seuls les conditionnements tactiles, gustatifs et olfactifs sont possibles. Parmi les SC possibles, nous trouverons donc la stimulation des vibrisses, des stimulations gustatives, et des stimulations olfactives. Les SI, quant à eux, peuvent être de deux types, de nature positive ou négative. Dans la première catégorie, on trouvera tout d'abord les caresses sur le corps du raton, généralement à l'aide d'un doux pinceau, pour mimer les attentions maternelles. Le deuxième renforcement positif est le renforcement alimentaire, généralement une injection intra-orale de lait. Dans certaines études, un souffle d'air chaud a été utilisé comme renforcement positif (Landers et Sullivan, 1999b). La seconde catégorie est celle des renforcements négatifs. Un renforcement assez peu utilisé dans la littérature mais largement dans l'équipe du Dr Sullivan est le choc électrique sur la queue de l'animal (pour revue, voir Sullivan, 2001, 2003). Le cas du choc électrique comme renforcement est repris plus en détails au paragraphe 5.3. Le deuxième grand type de renforcement négatif est l'injection intrapéritonéale de chlorure de lithium qui induit un malaise gastrique chez l'animal. Cette association est utilisée pour induire des aversions gustatives conditionnées. A l'aide des SC et SI décrits ci-dessus, quelles que soient les combinaisons, l'animal, même très immature, est parfaitement capable d'apprendre à associer le SC au SI et de manifester des réponses conditionnées.

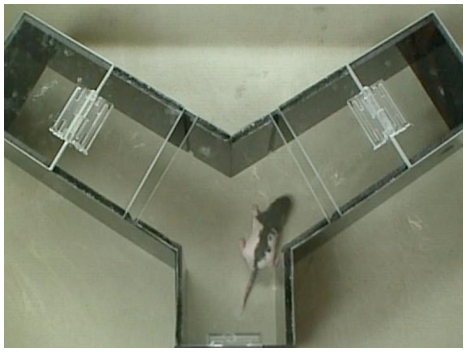


Figure 5.4 Photo d'un labyrinthe en Y utilisé lors de test de choix des ratons

Les mesures comportementales, de par la faible maturité du système moteur du raton avant PN10, ne seront pas les mêmes que celles observées chez l'adulte et sont peu nombreuses. L'expression comportementale d'immobilité n'apparaît pas avant PN16 pour des SC sonores et PN18 pour des SC visuels. Le comportement de sursaut quant à lui n'apparaît pas avant PN23 pour des SC sonores et PN30 pour des SC visuels (pour revue, voir Stanton, 2000). Quand le renforcement est du lait ou dans le cas d'aversions gustatives conditionnées, le temps d'accrochage à une tétine vide imprégnée du SC odorant est un bon reflet de l'apprentissage. Un test largement utilisé est le test de choix dans un labyrinthe en Y (voir Figure 5.4). Cet appareillage contient, au bout de chacun des deux bras, un échantillon d'odeur, soit le SC soit une odeur témoin (souvent de la litière propre). Lors du

test de rétention, les animaux y sont placés et la mesure sera la direction choisie par l'animal, c'est-à-dire l'orientation vers l'une ou l'autre de ces odeurs. On peut donc assez facilement estimer si l'animal manifeste une préférence, une aversion ou une neutralité au SC, dans le cas où il choisirait équitablement les deux odeurs.

Pour la suite de ce manuscrit, je m'intéresserai uniquement aux conditionnements olfactifs, laissant volontairement de côté les conditionnements somatosensoriels.

5.2.2. Les apprentissages olfactifs précoces: principaux résultats

Il est possible d'obtenir des réponses conditionnées dès les plus jeunes âges.

Tout d'abord, ces réponses s'observent avec des renforcements positifs. Chez le rat, Cheslock, Varlinskaya, Petrov et Spear (2000) ont montré que dès la troisième heure de vie, les ratons sont capables d'apprendre une association entre une odeur et l'ingestion de lait et de montrer un comportement d'accroche à une tétine vide imprégnée de cette odeur. La préférence acquise au cours de ce premier repas est très robuste puisqu'elle résiste à des interférences ultérieures, même lorsque cette odeur est ensuite associée à de la quinine aversive pour le rat (Cheslock, Sanders et Spear, 2004). Cette précocité s'observe dans d'autres espèces de rongeurs. Chez la souris, on peut obtenir des réponses de préférences conditionnées pour une odeur associée à des caresses dès le premier jour de vie de l'animal (Bouslama, Durand, Chauvière, Van den Bergh et Gallego, 2005).

Pour les renforcements négatifs, les réponses conditionnées dépendent de la nature de ce renforcement. Ainsi, le renforcement d'un SC avec du chlorure de lithium est capable d'induire une aversion très précocement. Le renforcement d'une odeur dès PN1 (Gemberling et Domjan, 1982), PN2 (Haroutunian et Campbell, 1979; Rudy et Cheatle, 1977; Smith, Charnock et Westbrook, 1983) ou PN5 (Gemberling, Domjan et Amsel, 1980) induit l'apprentissage d'une aversion olfactive conditionnée chez le raton. De même, il est possible d'induire une aversion gustative conditionnée dès PN3 (Gruest, Richer et Hars, 2004) ou PN5 (Kehoe et Blass, 1986; Hoffmann, Molina, Kucharski et Spear, 1987). Il est toutefois à noter que l'aversion par renforcement au chlorure de lithium est plus difficile si une association entre une injection orale de lait et de chlorure de lithium est faite alors que le raton reçoit des soins par sa mère (Martin et Alberts, 1979).

Concernant les renforcements avec des chocs électriques, les résultats dépendent de son intensité. Lorsqu'une odeur est associée à un choc électrique *modéré* sur la queue de l'animal, celui-ci montre une *préférence paradoxale* pour cette odeur et pas une aversion. Cet apprentissage d'une préférence reflète l'incapacité des ratons à apprendre des aversions avant PN10. En revanche, après PN10, au moment où les ratons sont suffisamment matures pour quitter leur nid, le même apprentissage entraîne une aversion, comme chez les adultes (Camp et Rudy, 1988; Sullivan, Landers, Yeaman et Wilson, 2000). La maturation de nombreuses structures cérébrales, dont l'amygdale, leur permet alors de discriminer les renforcements positifs ou négatifs et d'adapter leur comportement en conséquence. Il est à noter cependant qu'un choc électrique entraîne une aversion uniquement s'il est appliqué de manière à induire un malaise interne. Parmi ces cas, une intensité de courant très forte, y compris pour les adultes (1,2-1,5mA) induisent ce genre de malaises et permettent donc l'apprentissage d'aversion aux odeurs (Gemberling et Domjan, 1982; Gemberling, Domjan et Amsel, 1980). De même, des chocs électriques intéroceptifs, c'est-à-dire appliqués de façon intrapéritonéale et induisant des douleurs internes, deviennent capables d'induire une aversion (Haroutunian et Campbell, 1979). Les auteurs de cette dernière étude proposent que les ratons sont capables d'apprendre très facilement et uniquement des préférences pour des SC associés à des renforcements extéroceptifs (caresses, chocs modérés) ou intéroceptifs sans malaises (lait) mais apprennent des aversions pour des SC avec renforcements intéroceptifs induisant un malaise (chlorure de lithium, chocs très intense ou appliqués de façon intrapéritonéale).

L'ensemble de ces données montrent que les ratons montrent, sauf circonstances particulières pouvant compromettre leur survie immédiate, une capacité unique d'apprentissage de préférences conditionnées, y compris lorsque le renforcement est un choc électrique aversif modéré. Au cours des dix premiers jours de vie du rat, deux choses sont primordiales dans la course à la survie: tout d'abord, le raton ne doit pas manifester de comportements d'évitement pour sa mère. L'immaturité des structures normalement impliquées dans les apprentissages de peur conditionnée permettrait ces caractéristiques.

5.2.3. Conclusion: comment définir les apprentissages associatifs précoces?

5.2.3.1. L'attachement selon John Bowlby

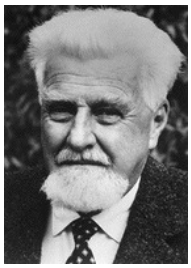
Portrait 17
John Bowlby
(1907-1990)

Chez les espèces dont les jeunes sont totalement dépendants des parents à la naissance, tels l'homme, ou encore nombre d'oiseaux ou de mammifères tel le rat, la formation rapide du phénomène d'*attachement* aux parents leur assure une plus grande probabilité de survie. Parmi les théoriciens de l'attachement, le pédiatre et psychanalyste John Bowlby (1907-1990, voir Portrait 1) en a défini plus clairement les principes. Ses réflexions se sont particulièrement appuyées sur les travaux de trois savants éminents avant lui: ceux de Konrad Lorenz sur les oiseaux, ceux de René Spitz sur l'hospitalisme et ceux de Harry Harlow chez les singes rhésus. Que disent ces auteurs?

5.2.3.1.1. Lorenz, Spitz et Harlow, les modèles

Dans les années 1930, Konrad Lorenz (1903-1989, voir Portrait 18) a montré que, chez les oiseaux en général et les oies en particulier, il existe une fenêtre temporelle très courte après la naissance où les oisons vont suivre le premier objet en mouvement qu'ils voient. Généralement, dans la nature, cet objet est leur mère. Lorenz a appelé ce phénomène l'*empreinte* (Lorenz, 1935). Ce phénomène est acquis très rapidement et est irréversible, c'est-à-dire que si le premier objet en mouvement vu n'est pas la mère, les oisons, jusqu'à leur âge adulte, continueront de le suivre comme si c'était elle. Konrad Lorenz est devenu célèbre grâce aux photos le représentant avec ses oies qui, le prenant sans doute pour leur mère, le suivent partout (voir Figure 5.5). Cet auteur a proposé que les jeunes sont *programmés* pour former une empreinte très forte à leur mère, c'est-à-dire celle qui leur assurera la plus grande chance de survie.

A peu près à la même époque, dans les années 1940, René Spitz (1887-1974, voir Portrait 19) étudie l'importance des contacts avec la mère dans le développement des aptitudes motrices et intellectuelles de l'enfant humain. Ses premières études ont porté sur deux groupes



Portrait 18
Konrad Lorenz…
(1903-1989)

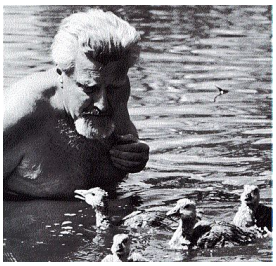
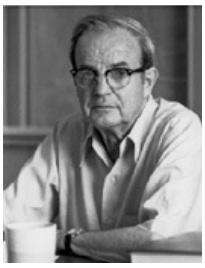


Figure 5.5
… avec ses oies

Portrait 19
René Spitz
(1887-1974)



Portrait 20
Harry Harlow
(1906-1981)

de sujets, des bébés en orphelinat, regroupés dans une même pièce dans leurs berceaux avec de faibles contacts avec une unique infirmière et d'autres vivant dans une pièce semblable dans une prison mais où les mères pouvaient leur prodiguer quotidiennement soins et affection et qui avaient des contacts avec d'autres personnes. Il a ainsi montré des retards de développement moteurs et intellectuels puisqu'à deux ans, seuls quelques enfants de l'orphelinat savaient marcher et bredouiller quelques mots alors que ceux élevés en prison avaient un développement comparable à ceux élevés à la maison. Ces études ont amené Spitz à proposer que les interactions sociales avec les autres humains, notamment la mère, sont essentielles au développement d'un enfant (Spitz, 1968).

Le troisième savant auquel Bowlby s'est référé est Harry Harlow (1906-1981, voir Portrait 20) et ses travaux sur la socialisation chez le macaque. Pour pousser plus loin les travaux de Spitz, Harlow a mis au point un modèle simien des relations mère-enfant et a montré que des jeunes macaques rhésus privés pendant trois à douze mois d'interactions avec leurs congénères, et ce à un âge très précoce, devenaient des adultes asociaux, incapables de s'intégrer à un groupe, vivant reclus et montrant des comportements répétitifs comparables à ceux d'enfants autistes. En revanche, la même privation à un âge plus tardif était sans effet sur les comportements sociaux des jeunes. Harlow en a donc déduit qu'il existe une fenêtre temporelle définie au cours de laquelle le lien que tisse le jeune avec ses congénères est déterminant pour son devenir affectif et social (Harlow, 1958).

5.2.3.1.2. La définition de Bowlby

S'appuyant sur ces travaux, John Bowlby a émis la théorie de l'attachement qui considère la tendance naturelle à établir des liens affectifs étroits comme un élément essentiel à la survie de l'être humain (Bowlby, 1965). Ainsi, à la naissance, l'enfant établit un lien

très fort d'attachement aux personnes qui assurent sa survie, la plupart du temps ses parents, et ces relations sont primordiales dans son développement psychique, affectif et social. Selon lui, l'enfant a un besoin inné du contact physique et psychique avec l'être humain, la plupart du temps sa mère, indépendamment de l'allaitement, comme le proposait alors Sigmund Freud. Ainsi, comme pour les singes de Harlow, des carences affectives au cours des premières années seraient, selon lui, irréversibles d'un point de vue des relations sociales (Bowlby, 1969). Lorsque l'attachement est réussi, c'est-à-dire quand l'enfant se sent en sécurité avec sa mère, il se trouve plus apte à affronter les séparations et les épreuves ultérieures.

Dans le cas de maltraitances, John Bowlby a mentionné que les enfants battus depuis leur plus jeune âge montrent paradoxalement un attachement très fort à leurs parents violents (Bowlby, 1965). Cet attachement paradoxal a été décrit non seulement dans de nombreuses espèces mammaliennes, que ce soit le chien (Fisher, 1955; cité dans Rajecki, Lamb et Obmascher, 1978), l'homme (Helfer, Kempe et Krugman, 1997) ou le singe (Harlow et Harlow, 1965) mais également dans tout le règne animal (chez le poulet, Hess, 1962). Il a ainsi été proposé qu'il existe un système unique d'attachement chez l'enfant, sélectionné par l'évolution, et qui ne tient pas compte de la qualité des soins apportés par les parents. En d'autres termes, qu'ils soient bons ou mauvais, l'enfant montrera un comportement *vital* d'approche et d'attachement à ses parents (Bowlby, 1965; Hofer, 1981). D'un point de vue évolutif, on peut imaginer les avantages de telles caractéristiques: il est important que l'enfant ne montre pas de peur envers sa mère mais ait au contraire des comportements d'approche puisqu'il en a besoin pour survivre, celle-ci lui étant la seule à pouvoir lui assurer nourriture, chaleur et protection (pour revue, voir Sullivan, 2001). Dans une optique purement pragmatique de survie, il est donc certainement préférable pour lui d'avoir de mauvais parents que pas de parents du tout (Hofer et Sullivan, 2001).

5.2.3.2. Les apprentissages associatifs durant la période sensible sont-ils des attachements?

Au vu de la définition de l'attachement, on peut proposer que les conditionnements associatifs au cours de la période sensible *sont* des attachements. Cette proposition est possible car elle répond aux caractéristiques de Bowlby, c'est-à-dire un comportement très fort d'approche envers un stimulus renforcé, quelle que soit la valence de ce renforcement

(caresses, lait, air chaud, chocs électriques modéré chez le rat, affection ou maltraitances chez l'humain) mais qui ne dure que pendant une fenêtre temporelle limitée (quelques heures chez le poulet, quelques jours chez le rat…). Les ratons ne possédant pas les structures cérébrales leur permettant de différencier un renforcement positif ou négatif, ils expriment un comportement d'approche à l'odeur.

Ainsi, le paradigme de conditionnement pavlovien avant PN10 chez le rat peut se révéler très utile pour étudier les bases neuronales de l'attachement chez les mammifères. Par ailleurs, selon Bowlby, des carences affectives vécues au cours des premières années de vie ont des conséquences irrémédiables sur le devenir psychique de l'individu. Le paradigme utilisé chez le rat peut donc également se révéler utile pour comprendre les phénomènes sous-tendant ces psychopathologies. Ce genre de protocole peut donc servir comme modèle d'étude de l'attachement et, au besoin, de ses conséquences à l'âge adulte.

5.3. Le cas particulier du conditionnement odeur-chocs néonatal

Nous l'avons vu, l'association entre une odeur et un choc électrique entraîne une peur conditionnée chez le rat adulte (pour revue, voir Otto, Cousens et Herzog, 2000). Chez le raton, au cours de la période sensible, il en va autrement…

L'association entre une odeur et un choc électrique modéré entraîne une préférence à cette odeur que j'appellerai *préférence paradoxale* par la suite. Cette préférence s'exprime à PN9 mais dès PN10, l'animal montre une aversion à cette odeur (Sullivan, Landers, Yeaman et Wilson, 2000). Quels sont les mécanismes expliquant ces particularités ?

5.3.1. Neurobiologie de l'apprentissage de préférence paradoxale

La préférence paradoxale acquise au cours de la période sensible est corrélée à une activation du BO (Moriceau et Sullivan, 2004a) et à une absence d'activation du BLA (Sullivan, Landers, Yeaman et Wilson, 2000) (mesures en 2-DG) . Dans ces deux études, la

même association en période post-sensible entraîne une aversion à l'odeur, qui n'est plus associée à une activation du BO (Moriceau et Sullivan, 2004a) mais à celle du BLA (Sullivan, Landers, Yeaman et Wilson, 2000).

Dans le cas de l'activation du BO, la noradrénaline joue un rôle primordial puisque la présentation d'une odeur seule avec une injection concomitante de noradrénaline, soit de façon intrapéritonéale (Bordner et Spear, 2006), soit directement dans le BO (Langdon, Harley et McLean, 1997; Sullivan, McGaugh et Leon, 1991; Sullivan, Wilson et Leon, 1989) entraîne une plasticité ainsi qu'une préférence pour cette odeur. Lors d'apprentissages, la noradrénaline est secrétée par le LC. En effet, au cours de la période sensible, la présentation d'une odeur avec une stimulation du LC permet à elle seule d'entraîner une préférence (Sullivan, Stackenwalt, Nasr, Lemon et Wilson, 2000). Ainsi, lors des dix premiers jours de vie de l'animal, le LC possède des profils d'activation différents de l'âge adulte puisqu'il montre une hyperactivation en réponse aux stimuli inconditionnels. Cela déclenche une très forte libération de noradrénaline dans le BO qui y entraîne une plasticité. Cette plasticité sous-tend la préférence paradoxale (pour revue, voir Sullivan, 2001). Au niveau anatomique, cette importance fonctionnelle est corrélée à une projection d'environ 40% des fibres du LC sur le BO (Shipley, Halloran et de la Torre, 1985).

Une étude récente de cartographie cérébrale au 2-DG a mis en évidence que, en plus du BO, l'apprentissage d'une préférence paradoxale au cours de la période sensible (PN8) est sous-tendu par l'activation du CPa. L'apprentissage de l'odeur reposerait donc sur un réseau simple LC/BO/CPa. A PN12 en revanche, quand les animaux n'apprennent plus cette préférence mais une aversion, le réseau est différent et est le même que celui des adultes, c'est à dire impliquant l'activation de l'amygdale (LA, BL, ACo et Me) et du CPp (Moriceau, Wilson, Levine et Sullivan, 2006).

5.3.2. Déclenchement de la fin des apprentissages paradoxaux

La fin de la période sensible à PN10 chez le rat correspond à l'émergence de nombreux changements morphologiques (systèmes visuel, auditif et moteur fonctionnels), neuroanatomiques (maturation des structures) et comportementaux (le rat n'est plus capable d'apprentissages de préférences paradoxales et peut apprendre des aversions). Ces

changements sont sous-tendus par de nombreuses modifications neuroendocriniennes, principalement au niveau des systèmes noradrénergique et des CORT.

Pour le système des CORT, il a été montré expérimentalement, dans des expériences de peurs conditionnées (Moriceau et Sullivan, 2004a) ou inconditionnées avec l'utilisation d'odeur de prédateurs naturels (Moriceau, Roth, Okotoghaide et Sullivan, 2004), que la fin de période sensible peut-être modulée en jouant sur le taux de CORT. En effet, l'ablation des glandes surrénales à PN8 empêche la sécrétion normale de CORT et permet l'allongement de la période sensible jusqu'à PN12. L'injection de CORT concomitante à cette ablation réinstaure la fin de la période sensible à PN10. A l'inverse, l'injection de CORT à PN8 termine la période sensible: les ratons montrent soit une peur conditionnée à une odeur associée à des chocs sans activation du BO, soit une peur inconditionnée et une activation de l'amygdale en réponse à une odeur de mâle. En parallèle de ces résultats, une expérience très récente vient de montrer que la fin de la période sensible peut aussi être modulée naturellement par la présence de la mère: ainsi, si des ratons sont conditionnés jusqu'à PN15 en présence de leur mère anesthésiée, ils continuent de montrer une préférence paradoxale à une odeur. Celle-ci est corrélée à une activation du BO mais pas de l'amygdale. Dans les mêmes conditions, l'injection de CORT empêche cet allongement. La fin de la période sensible semble donc due à une augmentation du niveau de CORT qui permet l'activation de l'amygdale. La présence de la mère seule serait capable d'annihiler cette augmentation (Moriceau et Sullivan, 2006).

Parallèlement aux changements du système des glucocorticoïdes, des changements au niveau de l'axe LC/BO ont également lieu. Ainsi, la modification du rapport entre autorécepteurs noradrénergique excitateurs et inhibiteurs dans le LC entraîne une modification des caractéristiques de cette structure dans les apprentissages. A la fin de la période sensible, le nombre d'autorécepteurs α_1 excitateurs diminue et le nombre d'autorécepteurs inhibiteurs α_2 augmente dans le LC (Moriceau et Sullivan, 2004b). L'hyperactivation de cette structure observée pendant la période sensible cède donc la place à un mode de réponse proche de celui observé chez les adultes, c'est-à-dire une voie de neuromodulation des apprentissages (pour revue, voir Gervais, Holley et Keverne, 1988; Mouly, Elaagouby et Ravel, 1995). En fin de période sensible, le système noradrénergique perd donc son importance fonctionnelle permettant les apprentissages uniques de préférence paradoxale, caractéristiques des nouveaux-nés.

L'ensemble de ces données montre donc que la fin de la période sensible est caractérisée par de nombreuses modifications neuroendocrines: le système noradrénergique n'a plus son rôle de support des apprentissages de préférences paradoxales. Par ailleurs, la fin

de la période d'hyporéponse au stress et l'augmentation de la sécrétion d'hormones de stress permet l'incorporation de l'amygdale dans les circuits d'apprentissage. Le raton de plus de dix jours devient donc capable de faire la différence entre des stimuli appétitifs et aversifs, c'est-à-dire qu'il peut apprendre à éviter des stimuli aversifs et à préférer des stimuli bénéfiques.

5.4. Conséquences à long-terme des expériences précoces

Il est admis maintenant que les expériences très précoces vécus par un jeune, qu'elles soient prénatales ou néonatales, ont des influences sur sa physiologie et ses comportements à l'âge adulte, que ce soit chez le rat (pour revues, voir Anisman, Zaharia, Meaney et Merali, 1998; Pryce et Feldon, 2003; Pryce, Rüedi-Bettschen, Dettling et Feldon, 2002), le singe (pour revue, voir Pryce, Rüedi-Bettschen, Dettling et Feldon, 2002) ou l'homme (pour revue, voir Teicher et collaborateurs, 2003).

La grande majorité des études destinées à évaluer les effets à long-terme des expériences précoces ont porté sur l'influence des stress périnataux. L'idée dominante issue de ces travaux est que le stress périnatal modifie durablement le fonctionnement de l'axe corticotrope. Les mesures classiques utilisées pour estimer le stress d'un animal sont la mesure des hormones de stress circulantes dans le plasma, l'ACTH et surtout la CORT, ainsi que le rapport entre la masse de la glande corticosurrénale et la masse du corps: un rapport élevé reflète une hyperréactivité de cet axe et donc des animaux que l'on peut facilement stresser (Armario, Restrepo, Castellanos et Balasch, 1985).

5.4.1. Influences des expériences de stress prénatal

Chez l'homme, de nombreuses données ont permis de mettre en évidence l'influence des hormones de stress maternelles sur le développement de l'axe corticotrope du fœtus (pour revue, voir Weinstock, 2005). Chez le rat, les mêmes observations ont été faites puisque l'état interne et émotionnel de la mère gestante est important pour le devenir de ses ratons. Ainsi, les différents stress subis par les mères au cours de la gestation influencent les réactions

émotionnelles des ratons une fois adulte (pour revue, voir Tazumi et collaborateurs, 2005). En effet, le stress de la mère entraîne une libération d'hormones de stress capables de passer la barrière placentaire. Ces hormones sont capables de moduler le développement de l'axe HPC des ratons *in utero*. Expérimentalement chez le rat, le stress de la mère est obtenu en la plaçant dans des tubes de contention, plusieurs fois par jour la dernière semaine de gestation. Ses petits, une fois devenus adultes, vont, par exemple, montrer un comportement plus anxieux dans des tests de nouveautés ou de labyrinthes surélevés, une plus forte libération et un retour à la ligne de base plus lent des CORT (Vallée et collaborateurs, 1997). L'une des cibles du CORT est l'hippocampe qui possède une forte concentration de récepteurs aux glucocorticoïdes. Une trop forte concentration de CORT entraîne une forte occupation des récepteurs aux glucocorticoïdes, ce qui induit des effets délétères dans la structure (pour revue, voir Sala et collaborateurs, 2004). Ainsi, Lemaire, Koehl, Le Moal et Abrous (2000) ont montré que les ratons dont les mères ont été stressées, montrent une baisse de prolifération cellulaire dans le gyrus denté et une production accrue de neurones immatures à tous les âges, corrélée à une augmentation de la masse de la glande surrénale, qui reflète une hyperactivité de l'axe HPC. Les auteurs mentionnent que ces rats ont un déficit de neurogénèse dans l'hippocampe au cours d'un apprentissage spatial, corrélé à une baisse de performance par rapport aux animaux témoins. A l'inverse, Vallée et collaborateurs (1997) ne mentionnent qu'une augmentation de l'anxiété mais pas de diminution des performances mnésiques dans un test spatial et de choix.

Ces quelques études montrent que nombre de comportements adultes pourraient résulter d'expériences in utero. Ainsi, une partie du devenir individuel est conditionné avant même la naissance.

5.4.2. Influences des expériences néonatales

De même que les expériences vécues par la mère peuvent moduler le développement de l'axe HPC, il peut également l'être par les propres expériences de l'individu. Parmi ces différentes expériences, la nature des interactions avec la mère lors des premiers âges joue un rôle déterminant (pour revue, voir Meaney, 2001). Au cours de la période d'hyporéponse au stress, le niveau de CORT est modulé par les stimulations sensorielles au cours des interactions avec sa mère. Lors de privations de contact de quelques heures, et donc de

privations d'interactions, le niveau de CORT circulante augmente (Lévine, 2001). Par ailleurs, le niveau de stress de la mère joue un rôle clé. Ainsi, quand il est élevé, son taux de CORT augmente et cette hormone passe chez le jeune via le lait (Yeh, 1984). Il a été montré que le taux de CORT influence grandement la maturation de l'axe HPC comme nous l'avons vu précédemment et donc la faculté à répondre aux stress une fois que l'individu est adulte (Lévine, 2001, 2002). La réponse au stress à l'âge adulte dépend donc en grande partie des expériences précoces (pour revue, voir Anisman, Zaharia, Meaney et Merali, 1998).

5.4.2.1. Cas des expériences positives

A l'âge adulte, les animaux qui ont vécu dans un environnement affectif positif et eu des contacts répétés avec leur mère (pour revue, voir Caldji, Diorio et Meaney, 2000) ou les expérimentateurs, montrent une faible propension à être stressés.

Ainsi, lorsque la mère est très maternante avec ses ratons, ceux-ci, une fois adulte, montrent une plus faible augmentation de l'ACTH et de la CORT en réponse à un stress. Par ailleurs, la libération de CORT sera plus fortement modulée (Liu et collaborateurs, 1997).

Par ailleurs, les manipulations précoces par l'expérimentateur ont un rôle sur le développement de l'axe corticotrope. Ainsi, dans une étude pionnière, Seymour Lévine (1957) a montré, de façon inattendue à l'époque, que les ratons ayant été manipulés précocement sont moins stressables à l'âge adulte. Depuis, ces observations ont été confirmées: les manipulations précoces, qui consistent en de brèves séparations quotidiennes (trois à quinze minutes), avec ou sans stimulations du raton, réduisent considérablement la réponse au stress de l'axe HPC et la sécrétion d'hormones de stress à l'âge adulte (Meaney, Aitken, Viau, Sharma et Sarrieau, 1989; Meerlo, Horvath, Nagy, Bohus et Koolhaas, 1999; Nuñez, Ferré, Escorihuela, Tobeña et Fernandez-Teruel, 1996; Vallée et collaborateurs, 1997). Cette diminution est corrélée à une baisse du niveau d'anxiété dans les tests d'exploration spontanée dans des grands espaces ouverts, dans les tests de nouveauté ou dans les tests de labyrinthe surélevé. De plus, les animaux présentent moins de comportements d'immobilité en réponse à des chocs électriques et se montrent moins peureux à l'égard des expérimentateurs (Macri, Mason et Würbel, 2004; Merloo, Horvath, Nagy, Bohus et Koolhaas, 1999; Nuñez, et collaborateurs, 1995; Nuñez, Ferré, Escorihuela, Tobeña et Fernandez-Teruel, 1996; Tang, 2001; Vallée et collaborateurs, 1997). Par ailleurs, à faible concentration, la CORT active l'hippocampe qui joue un rôle d'inhibition de l'hypothalamus

et donc de l'axe HPC (pour revue, voir McGaugh et Roozendaal, 2002). Les ratons de mères maternantes montrent une augmentation des récepteurs aux glucocorticoïdes dans l'hippocampe, ce qui permet un rétrocontrôle plus efficace de l'axe corticotrope (Liu et collaborateurs, 1997). Ces modifications structurales semblent associées à des modifications des performances dans des apprentissages dépendants de l'hippocampe, comme le test de la piscine de Morris (Tang, 2001). Enfin, au niveau anatomique, ces animaux montrent une baisse de la masse des glandes surrénales qui correspond à un très fort rétrocontrôle négatif de la libération de CORT (Nuñez, Ferré, Escorihuela, Tobeña et Fernandez-Teruel, 1996).

On peut donc voir que les expériences avec une connotation positive vécues au cours des premiers âges sont capables de moduler, via l'axe HPC, la capacité de réagir aux stress une fois que l'animal est devenu adulte. Les animaux seront plus difficilement stressables (cependant, voir Padoin, Cadore, Gomes, Barros et Lucion, 2001 pour les effets que peuvent avoir de trop fortes desinhibitions par absence de peur).

5.4.2.2. Cas des expériences négatives

A l'inverse des effets bénéfiques des interactions en bas âge, de nombreuses études ont montré que la séparation quotidienne prolongée (au-delà de trois heures) d'avec la mère produit les effets opposés, c'est-à-dire une augmentation de la sensibilité au stress de l'axe HPC à l'âge adulte (Francis et Meaney, 1999; Meaney, 2001).

La séparation d'avec la mère, qui consiste en une isolation des ratons de une à plusieurs heures par jour, voire une séparation complète de la naissance au sevrage (Lévy, Melo, Galef, Madden et Fleming, 2003) va entraîner une augmentation du taux de CORT, que cela concerne le taux de base, le taux de libération en réponse à un stress ou encore le temps nécessaire au retour à un taux basal (Karten, Olariu et Cameron, 2005; Vallée et collaborateurs, 1997; pour revue, voir Lévine, 2002). Cette augmentation est corrélée à de nombreux comportements inadaptés aux situations auxquelles les animaux sont soumis: augmentation des vocalisations en situations de stress (Kosten, Misenderino, Bombace, Lee et Kim, 2005), altération des comportements sociaux (Lévy, Melo, Galef, Madden et Fleming, 2003), altération des capacités d'adaptation à des situations nouvelles (Matthews, Wilkinson et Robbins, 1996), altération du répertoire de réponses aux stimuli appétitifs (Matthews et Robbins, 2003) et augmentation du niveau d'anxiété (Vallée et collaborateurs, 1997). Parallèlement, au niveau anatomique, on observe des modifications structurales des cellules

de l'hippocampe, avec notamment une atrophie des dendrites des cellules pyramidales de CA3, une inhibition de la neurogénèse et une plus grande production de neurones immatures dans le gyrus denté (Karten, Olariu et Cameron, 2005; Mirescu, Peters et Gould, 2004). Ainsi qu'une baisse du nombre de récepteurs aux glucocorticoïdes, ce qui réduit le rétrocontrôle sur l'axe HPC (Uys et collaborateurs, 2006). Néanmoins, les animaux ne montrent aucun déficit dans les apprentissages spatiaux (Lévy, Melo, Galef, Madden et Fleming, 2003; Vallée et collaborateurs, 1997). Une étude récente a montré que la séparation maternelle de trois heures par jour de PN1 à PN21 altère les capacités d'apprentissages d'une peur conditionnée au contexte chez l'adulte (Kosten, Lee et Kim, 2006). Les apprentissages émotionnels adultes de peur sont donc affectés par les expériences précoces.

Ainsi, à l'inverse des bénéfices des manipulations précoces, les séparations longues du raton d'avec sa mère perturbent le développement de l'axe HPC, ce qui a pour conséquence d'augmenter la sensibilité au stress et de perturber les comportements sociaux à l'âge adulte.

5.4.3. Influences des apprentissages précoces

L'ensemble des données citées concerne les conséquences de manipulations des ratons et du lien mère-jeune sur le comportement adulte et sur les performances cognitives. En dehors de ces expériences, très peu de données sont disponibles concernant les conséquences à long-terme d'apprentissages néonataux (pour revue, voir Fleming, O'Day et Kraemer, 1999). Ainsi, il a été montré qu'une aversion alimentaire induite chez une femelle gestante quelques jours avant la mise-bas entraîne la même aversion alimentaire chez ses ratons à l'âge de six semaines (Gruest, Richer et Hars, 2004). De plus, les rats dont la mère a eu les tétines imprégnées de citral lors de leur allaitement montrent une augmentation d'activité sexuelle à l'âge adulte en présence de femelles imprégnées de l'odeur de citral (Fillion et Blass, 1986 mais voir Moore, Jordan et Wong, 1996). Ces quelques données disponibles semblent indiquer que les préférences ou aversions résultant d'apprentissages associatifs à un âge très précoce sont maintenues à l'état latent tout au long de la vie de l'animal et peuvent influencer les comportements à l'âge adulte.

La deuxième étude de mon travail de thèse a consisté à aborder cette question dans le cadre de l'apprentissage de peur à l'odeur.

5.5. Objectifs de l'étude: effets de l'association néonatale odeur-chocs sur le conditionnement de peur à l'odeur à l'âge adulte

Comme nous l'avons vu au paragraphe 5.3, l'association néonatale entre une odeur et des chocs électriques possède des caractéristiques uniques avant PN10 puisqu'elle résulte en une préférence paradoxale pour cette odeur. Cette particularité est sous-tendue par un circuit unique simple entre le BO et le LC et par une faible concentration de CORT circulante. Avant la maturation complète des structures nécessaire à l'apprentissage de peur conditionnée, ce réseau sous-tend les apprentissages de préférence conditionnée, que le renforcement soit positif ou négatif.

La question que nous nous sommes posée a été de savoir si l'apprentissage d'une préférence paradoxale, était en mesure de modifier l'apprentissage de PCO obtenue chez l'adulte en utilisant la même association odeur-chocs.

Notre étude a consisté en deux étapes distinctes:

- Dans une première étape, nous avons caractérisé d'un point de vue comportemental les effets à long-terme de l'association odeur-chocs néonatale sur la même association à l'âge adulte. Pour cela, des animaux ont d'abord subi un conditionnement quotidien de PN8 à PN12, au cours duquel l'arrivée de l'odeur de menthe précédait la délivrance d'un choc électrique à la queue. Ce protocole induit une préférence paradoxale. Une fois adulte, différents groupes d'animaux ont été reconditionnés suivant trois protocoles distincts:
  - Dans le premier, les animaux ont subi la même association qu'au cours de la période sensible, c'est-à-dire un conditionnement de peur à l'odeur de menthe, au cours d'une séance unique. Le lendemain, nous avons mesuré le comportement d'immobilité en réponse au SC odorant.
  - Le deuxième a permis de tester si l'effet observé était spécifique de l'odeur apprise en période néonatale. Pour cela, les animaux ont été conditionnés avec une odeur témoin, le citral. Nous avons mesuré le comportement d'immobilité en réponse à cette nouvelle odeur.

- Dans le troisième protocole, les animaux ont été conditionnés avec l'odeur de citral, l'odeur de menthe étant présente comme indice contextuel lors du conditionnement. Nous avons mesuré le comportement d'immobilité en réponse au citral.

➢ La deuxième étape a permis de caractériser les circuits cérébraux impliqués dans l'apprentissage adulte dans la première et la troisième condition. Pour cela, une cartographie des structures cérébrales activées au cours du conditionnement a été faite à l'aide de la méthode du 2-DG. Cette méthode consiste à injecter à l'animal du 2-DG, un analogue non métabolisable du glucose qui emprunte les mêmes transporteurs transmembranaires. Cette molécule contient un atome de carbone radioactif (^{14}C), permettant de la localiser sur des coupes histologiques. Comme le 2-DG n'est pas métabolisable par les cellules du cerveau (il n'entre pas dans la chaîne de la glycolyse), il s'accumule dans les neurones lorsqu'il sera capté. Ainsi, une structure qui sera activée au cours du conditionnement capte beaucoup plus de glucose et de 2-DG qu'une structure qui ne s'active pas et l'accumulation de 2-DG y sera donc plus importante. Nous avons ensuite pu visualiser ces structures à l'aide d'un repérage de la radioactivité sur coupes histologiques.

Sevelinges Y, Moriceau S, Holman PJ, Miner C, Muzny K, Gervais R, Mouly AM et Sullivan RM

Memory of Infant Trauma: Infant fear conditioning attenuates adult learning

Abstract

Background. Early life adverse experience alters adult emotional and cognitive development. To assess the potential role of infant learning in adult outcome, we attempted to model early life trauma using an olfactory fear conditioning (odor-0.5mA shock) paradigm that produces an odor preference without amygdala participation in rat pups. In adulthood, fear conditioning and amygdala, which supports fear conditioning, were assessed.

Methods. Neonatal rats were conditioned daily from 8-12 days old with Paired odor-0.5mA shock, Unpaired, Odor-only or Naive (no infant conditioning). In adulthood, each infant training group was divided into 3 adult training groups, Paired, Unpaired or Odor-only using either the same infant CS odor (Exp 1), or a novel adult CS odor without (Exp2A) or with (Exp2B) the infant CS present as context. Adults were cue tested for freezing (odor in novel environment) and amygdala assessed (^{14}C 2-DG autoradiography) during acquisition.

Results. Infant Paired odor-shock conditioning attenuated adult fear conditioning but only if the same infant CS odor was used. Amygdala ^{14}C 2-DG analysis showed activity correlated with fear conditioning with Infant Paired odor-shock conditioning producing attenuated amygdala activity (similar to unlearned controls) but only if the same infant CS odor was present as CS or context.

Conclusion. This suggests some enduring effects of infant trauma may be under learned CS odor control and are therefore more amenable to clinical intervention.

Early life adverse experience alters adult fear presumably through the amygdala modulating adult fear expression to accommodate different environments. However, adverse experiences that go beyond convention push the developing fear system into pathological range, especially given genetic predispositions (Gross and Hen, 2004; Jaffee et al., 2004; Rhee and Waldman, 2002). Abnormalities in fear responding are associated with psychiatric disorders including increased fear expression in Post traumatic stress disorder (PTSD) but decreased fear expression in psychopathy (Bremner et al., 2005; Drevets, 2003; Kiehl et al., 2001; Sheline et al., 2001). It is unclear how early trauma alters fear and limbic system programming, in part, because of limited understanding of fear system development.

To explore the relationship between the developing fear system and adult fear neurobiology, we used an infant rat odor-shock fear conditioning procedure, which paradoxically causes an odor preference despite pups feeling pain (Barr, 1995; Camp and Rudy, 1988; Haroutunian and Campbell, 1979; Sullivan et al., 1986) presumably because the amygdala fails to participate in learning (Moriceau and Sullivan, 2004, 2005; Roth and Sullivan, 2001, 2003, 2005; Sullivan et al., 2000). Indeed, based on a temporary amygdala lesion, the amygdala is not used during this infant odor shock conditioning that produces an odor preference (Moriceau et al., submitted).

In adult rats, the amygdala is part of the fear conditioning neural circuit (Davis et al., 2003; Debiec and LeDoux, 2004; Fanselow and Gale, 2003; Hess et al., 1997; Jones et al., 2006; LeDoux, 2003; Rosenkranz and Grace, 2002; Sananes and Campbell, 1989; Schettino and Otto, 2001; Sevelinges et al., 2004). The clinical literature also suggests the amygdala is intimately involved with fear learning (Heim and Nemeroff, 2001; Nestler et al., 2002; Teicher et al., 1997, 2003), although amygdala imaging studies with antisocial disorders such as psychopathy suggest attenuated amygdala functioning in fear conditioning (Kiehl et al., 2001).

Here we manipulated infant experience using a fear conditioning paradigm that activates the nonamygdala neonatal learning circuit that produces an odor preference. In order to investigate whether this early experience has lasting consequences, we later assessed fear conditioning and amygdala function in adulthood.

MATERIAL AND METHODS

Subjects and Husbandry. Male Long Evans rat pups were born and bred in the University of Oklahoma (originally Harlan Lab) from dams housed in polypropylene cages (34 X 29 X 17 cm) lined with abundant pine shavings, ad lib food and water, and kept in a temperature (23°C) and light (0700-1900 hr) controlled room. The day of parturition was considered PN0 and litters were culled to 12 on PN0-1. No more than two males from a litter were used in an experimental training/testing condition. Pups were left undisturbed with the mother until weaning at PN21-23 and then

housed 2 same sex per cage until adult fear conditioning (4 months ± 1.5 months). All procedures were approved by the University of Oklahoma Institutional Animal Care and Use Committee and follow NIH guidelines.

Infant Odor-Shock Conditioning. At PN 7-8 pups were assigned to one of the previously described 45 min classical training conditions and trained daily for 5 consecutive days, a procedure that produces an odor preference and lack of amygdala participation (Sullivan et al., 2000). The *paired* group received 11 pairings of the unconditioned stimulus (US – hind limb shock; 0.5 mA, 1 sec.) paired with the last second of the 30 sec CS (McCormick Pure Peppermint, Hunt Valley, Maryland; 2L/min, 1:10 peppermint vapor to air) delivered via an olfactometer controlled by a Chrontrol with an inter-trial interval (ITI) of 4 min. The *unpaired* group was shocked 1.5 - 2 min following the CS odor presentation and the *odor-only* group received only the odor CS. *Naive* pups did not receive odor or shock and were always from a litter without any conditioned pups. Pups were removed from the nest, immediately placed in individual 600 ml clear plastic cylinders, given 10 min to recover from experimenter handling and were returned immediately to the nest following the 45 min training. Pups' behaviors were monitored during training with behavioral activity observed using a rating scale related to the number of limbs moving (0= no movement of the extremities; 5= movement of all 5 extremities that includes the head), as well as specific behaviors (i.e. head up for response to odor, wall climbing and vocalization to shock).

This paradoxical odor preference learning is not due to pup inability to detect pain. Shock elicits escape behaviors, pain associated vocalizations as well as other pain related behaviors. While threshold to shock does change dramatically during development, there is no change in hindlimb shock threshold or behaviors elicited by shock during the days before or after shock begins to support odor aversion learning (Barr, 1995; Collier and Bolles, 1980; Emerich et al. 1985; Haroutunian and Campbell, 1979; Hofer 1996; Stehouwer and Campbell, 1978; Sullivan et al. 2000).

Some animals were tested for an odor preference at PN13 using a Y-Maze (Sullivan and Wilson, 1991). Animals were given 5 trials in the Y-maze, which required a choice between the CS odor and a familiar odor (the same wood shavings used in the home cage but clean) placed at the end of two arms of a Plexiglas Y-maze (start box: 8.5 x 10 x 8 cm; choice arms: 8.5 x 24 x 8 cm). The animals were placed in the start box for 5 sec, then alley doors opened, and animals were given 60 sec to choose an arm. Between trials, the animal was removed for 10 sec and the floor wiped clean with water and dried. These animals were not used in adult conditioning experiments.

Adult odor-shock conditioning. Conditioning was similar to infant conditioning, using a 30 sec CS odor (same concentration), although shock was slightly higher (0.8mA, 1 sec foot shock delivered

through a grid floor) and still delivered during the last sec of the odor. All other parameters remained the same with a 45 min conditioning session (11 pairings, 4 min ITI). Conditioning took place in a standard Lafayette conditioning chamber attached to a shock generator (LaFayette) within a ventilated attenuating chamber under red light. Rats were handled 3 times for 5 min in the week preceding conditioning. Twelve different behavioral groups were used with each of the 4 infant training groups (*Paired, Unpaired, Odor, Naive*) split into 3 adult groups (*Paired, Unpaired, Odo*r) for behavior (Experiment 1A), although only select groups were used for neural and odor specificity assessment.

While the peppermint odor was always used as the CS in infancy, two different CSs were used in adulthood: peppermint odor CS (same odor and concentration used in infancy training; Experiment 1) and a novel citral odor CS (toassess whether the attenuated fear conditioning in Exp 1 was specific to the odor experienced in infancy;; Experiment 2). In the last study, the peppermint odor was present as context for some pups (Experiment 2B). This context peppermint odor was also delivered by a flow dilution olfactometer but at the same concentration used in infancy (1:10 peppermint vapor to air) but at a lower delivery (1 L/min flow rate) and present continuously during adult conditioning.

Cue testing in adulthood. CS (peppermint in Experiment 1A, citral in Experiment 2A, 2B) conditioned fear was assessed 24 hours after the adult odor-shock conditioning in a novel test cage to prevent context fear conditioning influence. The CS-testing cage was a Plexiglas aquarium (25.4 x 50.8 x 30.5 cm). Rats were placed in the testing cage and given 10 min to recover from experimental handling before testing began. The 30 sec CS odor (peppermint or citral) was then introduced 3 times with an ITI of 4 min. Freezing behavior, characterized by a crouching posture and an absence of any visible movement except that due to breathing, was assessed during 30 sec before each odor presentation and during the CS presentation. Most testing sessions were filmed for later data verification.

Assessing amygdala neural correlates. In select conditioning groups, adult rats were injected with ^{14}C 2-deoxyglucose (2-DG; 40μCi sc/rat) 5 min prior to the 45-min odor-shock conditioning. Immediately following conditioning, adult rats were decapitated and their brains quickly removed, frozen in 2-methylbutane (-45°C) and stored in a -70°C freezer. For analysis, brains were sectioned (20μm) in a -20°C cryostat, and every other section was placed on a cover slip and exposed for 5 days along with standards (^{14}C standard 10 X .02 mCi; American Radiolabeled Chemicals Inc., St. Louis, MO) to X-ray film (Coopersmith and Leon, 1986; DiRocco and Hall, 1981; Nudo and Masterton, 2004; Sullivan and Wilson, 1995). As illustrated in Figure 1, specific amygdala nuclei (basolateral, lateral, cortical, medial and central) were identified by counterstaining sections with cresyl violet and by making a

template of that brain area for use with the autoradiographs (Paxinos and Watson, 1986). The 2-DG uptake was expressed relative to 2-DG uptake in the corpus callosum (which did not vary with conditioning group) to control for differences in section thickness and exposure (Moriceau and Sullivan, 2004; Sullivan et al., 2000). Analysis was done by an individual blind to the experiment conditions.

Statistical analysis. Comparisons were made between groups using analysis of variance test (ANOVA) followed by post hoc Fisher tests (Winkler and Hays, 1975).

RESULTS

Infant odor-shock training produces an odor preference. Selected pups were tested at PN13 in a Y-maze which verified the acquisition of the odor-shock induced odor preference (Figure 2; $F_{(2,10)} = 5.311$, $p < 0.05$); post hoc Fisher tests revealed that the *Infant Paired* group differed significantly from each of the control groups at the $p < 0.05$ level. These pups were not used in adulthood.

Experiment 1: Long-term effects of early learning on adult fear conditioning.

Experiment 1A - Behavior. In adulthood, we first assessed the effects of infant odor-shock conditioning on adult fear conditioning using the same CS odor in infancy and adulthood. The day after adult fear conditioning, animals were given a cue CS test in a novel environment (Figure 3A). Animals receiving *Infant Paired* peppermint-shock conditioning and reconditioned as *Adult Paired* peppermint-shock showed decreased freezing during subsequent CS odor cue test. Infant conditioning in control groups (*Unpaired, Odor, Naive*) had no effect on *Adult Paired* conditioning (Figure 3A). The freezing behavior ANOVA analysis revealed a main effect of condition ($F_{(11,50)} = 22.018$, $p < 0.0001$); post hoc Fisher tests revealed that the *Adult Paired* groups each differed significantly from each of the control groups at the $p < 0.05$ level and that the *Infant Paired/Adult Paired* group exhibit a significant lower level of freezing than the *Infant Naive/Adult Paired* group, the *Infant Unpaired/Adult Paired* group and the *Infant Odor only/Adult Paired* group at the $p < 0.05$ level. In summary, only animals receiving both *Infant Paired* and *Adult Paired* odor-shock conditioning with the same CS showed decreased freezing.

Experiment 1B - Amygdala. The reduced freezing seen in animals with *Infant Paired/Adult Paired* odor-shock conditioning (same CS) was associated with reduced amygdala activity during conditioning (Figure 3B). Indeed the ANOVA revealed a main effect for condition for the basolateral ($F_{(3,15)} = 7.341$, $p< 0.005$), lateral ($F_{(3,15)} = 7.580$, $p< 0.005$) and cortical ($F_{(3,15)} = 4.558$, $p< 0.05$) amygdala nuclei. Post hoc Fisher tests revealed that the *Infant Naive/ Adult Paired* differed from each of the other groups for the basolateral, lateral and cortical nuclei of the amygdala at the $p < 0.05$ level. *Infant Paired/ Adult Paired* amygdala nuclei did not differ from controls. No statistical differences were found for the medial or central amygdala.

In summary, Experiment 1 suggests the attenuated freezing seen in animals with *Infant Paired/ Adult Paired* conditions (same CS) was associated with a lack of activation in cortical, basolateral, lateral amygdala nuclei compared to animals experiencing paired odor-shock conditioning for the first time in adulthood. Infant experience with unpaired and odor only conditioning appeared to have no effect on learning or amygdala responsiveness.

Experiment 2: Are the long-term effects of infant conditioning odor specific?

We assessed the odor-specificity of the infant trained odor on later adult fear conditioning, using a novel CS for adult odor-shock conditioning without (Exp 2A; Figure 4) and with (Exp 2B; Figure 5) the infant CS peppermint odor present as context.

Experiment 2A - Behavior - Novel citral CS in adult conditioning. Figure 4 shows that attenuated learned freezing is specific to the odor used in infant training. Indeed the freezing behavior ANOVA analysis revealed that *Infant Paired Peppermint/Adult Paired Citral* and *Infant Naive/Adult Paired Citral* groups demonstrated significantly higher levels of freezing compared to the control group ($F_{(2,11)} = 28.147$, $p < 0.0001$); post hoc Fisher tests revealed that the *Infant Paired Peppermint/Adult Paired Citral* and *Infant Naive/Adult Paired Citral* groups, which did not differ from one another, each differed significantly from the *Infant Naive/Adult Unpaired Citral* group at the $p < 0.05$ level.

Experiment 2B - Behavior - Novel citral CS in adult conditioning with infant peppermint as context. Figure 5A shows adult conditioning to a novel citral CS with the infant peppermint CS used as context. Only the novel CS citral odor was present during the adult cue testing. *Infant Paired Peppermint/Adult Paired Citral with peppermint context* demonstrated lower levels of freezing than *Infant Naive/Adult Paired Citral with peppermint context*. There was also an effect for infant unpaired presentations. Specifically, *Infant Unpaired Peppermint/Adult Paired Citral with peppermint context* showed reduced freezing but not as attenuated as the *Infant Paired Peppermint/Adult Paired Citral with peppermint context*, although it was a significant difference. The freezing behavior ANOVA analysis revealed a main effect of condition ($F_{(4,13)} = 16.197$, $p < 0.0001$); post hoc Fisher tests revealed that the *Infant Unpaired Peppermint/Adult Paired Citral with peppermint context* and *Infant Naive/Adult Paired Citral with peppermint context* groups differed significantly from one another, all the control groups and *Infant Paired Peppermint/Adult Paired Citral with peppermint context* at the $p < 0.05$ level. *Infant Paired Peppermint/Adult Paired Citral with peppermint context* did not differ from control groups at the $p < 0.05$ level. Therefore, the presence of the infant learned odor as context during acquisition in adults attenuates fear learning to a novel odor.

<u>Experiment 2B</u> - Amygdala - Novel citral CS in adult conditioning with and without infant peppermint as context. Figure 5B illustrates amygdala nuclei responses during adult conditioning with a novel odor with or without the infant peppermint odor was used as context. The *Infant Naive/Adult Citral Paired group with peppermint context* had their amygdala (basolateral, lateral and cortical) incorporated into the fear learning circuit, while *Infant Paired Peppermint/Adult Paired Citral with peppermint context* did not. The *Infant Unpaired Peppermint/Adult Paired Citral with peppermint context* had intermediate activation of the amygdala (basolateral, lateral), although the cortical nucleus was not different from the *Infant Naïve/ Adult Paired Citral with peppermint context*. ANOVA analysis revealed statistical differences for the basolateral amygdala ($F_{(4,14)}$ = 14.749, p< 0.0001), lateral amygdala ($F_{(4,14)}$ = 14.138, p< 0.0001) and cortical amygdala ($F_{(4,13)}$ = 8.172, p< 0.002). Post hoc Fisher tests verified difference at the $p < 0.05$ level for the basolateral, lateral and cortical nuclei. No statistical differences were found for the medial or central nuclei.

In summary, Experiment 2 suggests the attenuated learned freezing and amygdala activity are specific to the odor learned in infancy. However, if the infant odor was present as context during conditioning to the novel odor, attenuated learning and amygdala activity similar to controls was found.

DISCUSSION

Effects of infant trauma, as illustrated by our infant fear conditioning, are still present in adult life and expressed by attenuated adult fear conditioning and *amygdala activity* similar to that seen in controls. The odor-specific nature of infant odor-shock conditioning long-term effects indicates the trauma was specific to CS odor learning.

However, when the infant odor was used as adult context, *infant unpaired* or *infant paired* odor-shock groups showed later attenuated adult fear conditioning to a novel odor and amygdala activity during acquisition. The unpaired pups showed no learning in infancy and were conditioned at age before the emergence of context conditioning (Rudy and Morledge, 1994; Stanton 2000). While these data are difficult to interpret, evidence suggests the hippocampus and amygdala both processing cue and context odors differently, which may have influenced fear learning (Herzog and Otto, 1997; Otto and Giardino, 2001). This differential odor processing may be further modulated by anxiety/stress or neural changes induced by the infant trauma (Coplan et al, 1996; Francis et al., 1999; Gutman and Nemeroff, 2002; Heim et al., 1997; Schulz et al., 2004; Schore 2005; Tang et al., 2003; Yaniv et al., 2001; Ziabreva et al., 2003). Together, these data suggest cues associated with adverse infant experiences are learned and acquired the ability to modify both infant and adult behaviors and brain circuitry associated with fear learning. This suggests recently identified strategies to attenuate or modify learning during expression may be relevant to pathology associated with early life

trauma (Debiec and LeDoux, 2004; Duvarci and Nader, 2004; Nader et al., 2000).

The ability for early life odor-shock conditioning to modify the adult fear circuit may be due to the unique neural circuitry activated during infant odor-shock conditioning, which does not include the amygdala (Sullivan et al., 2000; Moriceau and Sullivan, 2004, Roth and Sullivan, 2005). We suggest that, neonatal odor-shock conditioning activates the rats' attachment learning circuit enabling rapid, robust maternal odor learning required for nipple attachment, while preventing avoidance and other types of learning that would interfere with attachment (Dumery et al., 2004; Dumery and Blozovski,1986; Blozovski and Cudennec, 1980; Collier et al., 1979) . This attachment learning circuit appears present throughout the animal kingdom since caregiver preference are formed in similar adverse circumstances in other species, including chicks, dogs, nonhuman primates and humans (Harlow and Harlow, 1965; Helfer et al., 1997; Hess, 1962; Maestripieri et al., 1999; Rajecki et al., 1978; Stanley, 1962; Salzen, 1979). We suggest the attachment neural circuitry has been conserved in evolution and supports survival dependent attachment regardless of caregiving quality (Hofer and Sullivan, 2001) and may reemerge, at least in part, to support attachments in later life (Brennan and Keverne, 1997; Fleming et al., 1999; Insel and Young, 2001).

While threshold differences for shock exist between the neonate and adult, this cannot account for the paradoxical odor preference since age differences in hind limb shock-induced pain do not exist before and after fear conditioning emerges around 10 days of age (Barr, 1995; Collier and Bolles, 1980; Emerich et al., 1985; Stehouwer and Campbell, 1978; Sullivan et al., 2000). Furthermore, manipulation of the amygdala and fear conditioning remain associated under a myriad of experimental manipulations. For example, a temporary amygdala lesion (muscimol) or infusion of corticosterone receptor antagonist in 14 day old pups blocks fear conditioning (Moriceau and Sullivan, submitted; Moriceau et al., submitted). In younger pups (8 days old), fear conditioning can be induced to emerge precociously with intra-amygdala infusion of corticosterone or post-training intra-amygdala infusion of the opioid blocker naltexone (Moriceau and Sullivan, submitted; Moriceau et al., submitted; Roth et al., submitted). These data indicate a causal relationship between the emergence of amygdala's participation in learning and learned fear.

The developmental changes observed in fear conditioning and associated amygdala involvement described above could reflect undeveloped circuits within the amygdala, sensory access to the amygdala, or neuromodulators extrinsic to the amygdala. Anatomical data suggests the amygdala continues to develop into adolescence, although distinct amygdala nuclei are present in the 7 day old (Berdel and Morys, 2000; Berdel et al., 1997; Mizukawa et al., 1989; Morys et al., 1999). Connections to higher-order brain areas, such as the hippocampus and prefrontal cortex are probably not developed until late in the preweanling period

(Bouwmeester et al., 2002; Crain et al., 1973; Cunningham et al., 2002; Nair and Gonzalaz-Lima, 1999; Van Eden and Uylings, 2004; Verwer et al., 1996). Amygdala sensory input may change over development since the olfactory pathway activated by odor-shock conditioning changes. In early life, this learning produces changes in the olfactory bulb and anterior piriform cortex (learning an odor preference), while older pups (learning odor aversion) show changes in the posterior piriform (2-DG Moriceau et al., submitted; cFos Roth et al., submitted). However, olfactory connections appear to reach the amygdala in the early neonatal period (Schwob and Price, 1984).

Adult fear circuit. The auditory and olfactory adult fear circuit has been characterized, with the amygdala's inclusion in this circuit well documented for both sensory systems (Doron and LeDoux, 1999; Fanselow and LeDoux, 1999; Fanselow and Gale, 2003; Goosens and Maren, 2001; Maren, 2003; McGaugh 2004; Otto et al., 2000; Pare et al., 2004; Sullivan et al., 2000; Sevelinges et al., 2004). Data based on lesion studies (Schettino and Otto, 2001), intracellular recordings in anesthetized rats (Rosenkranz and Grace, 2002) and brain mapping techniques such as cFos (Cousens and Otto, 1998) suggest a particularly important role for the basolateral complex in odor fear conditioning. Learning related changes in the amygdala are also associated with the areas involved with olfactory input, such as piriform cortex (Litaudon et al., 1997) and the cortical nucleus (Sevelinges et al., 2004). These results are consistent with the results from our Paired rats without (naive) infant experience.

This is in sharp contrast to our results on fear conditioning with infant odor-shock Paired experience where fear learning and the amygdala's were attenuated. The behavioral data are consistent with research suggesting learning can be modified by devaluing the reward, a process thought to be mediated by prefrontal cortex – amygdala interactions (Bachara et al., 1999; Balleine et al., 2003; Baxter et al., 2000; Gallagher et al., 1999; Hartfield et al., 1996; Holland and Gallagher, 2004; Pickens et al., 2005; Schoenbaum et al., 2003). Thus, it is possible that the infant odor-shock conditioning produced a positive odor that simply devalued the shock during adult fear conditioning. This suggests that the odor made positive through pairings with shock, may alter adult fear learning in a manner similar to presentation of natural or learned preferred odors, such as food odor or odors paired with food. It is also possible the prefrontal cortex, another brain area or factors intrinsic to the amygdala modulated learning (Milad et al., 2004; Sotres-Bayon et al., 2004, 2006). This will require further testing.

Neurobiology of infant trauma. A useful paradigm for the influences of neurobehavioral effects of infant trauma has been the maternal deprivation paradigm, where pups are separated from the mother for prolonged periods modeling early life neglect (Denenberg, 1963; Harlow and Harlow, 1965; Levine, 1962). These manipulations modify

emotional expression, includes modification of fear and learning. Corresponding modification in myriad brain areas have been identified and include the amygdala and other limbic system structures (Bremner et al., 1993; Coplan et al, 1996; Francis et al., 1999; Gutman and Nemeroff, 2002; Heim et al., 1997; Ziabreva et al., 2003). It is possible that our early life manipulation may have caused similar changes in brain development, which is currently being explored in our lab.

Clinical implications. While it is extremely difficult to model adult psychiatric disorders in humans, animal work on fear conditioning has provided insight into the neurobiology (Davis and Whelan, 2001). The antisocial clinical population, which includes psychopaths, show deficits in fear conditioning and fear potentiated startle, both amygdala dependent behaviors (Hare 1965, 1982; Hare and McPherson 1984; Hare and Quinn, 1971; Patrick, 1994; Patrick et al, 1994). Children with callous-unemotional traits, which may be related to later emergence of psychopathy, also show diminished fear related learning (Frick, 1998; Viding, 2004). While limited studies of functional imaging have been done in this clinical population, psychopaths appear to have attenuated amygdala activation during fear conditioning (Kiehl et al., 2001). While gene-environment interactions are associated with antisocial behaviors, including psychopathology, environmental influences are clearly important, including child abuse (Gross and Hen, 2004; Jaffee et al., 2004; Rhee and Waldman, 2002). Indeed, early abuse is associated with later psychopathology (Pollack, 2003; Teicher et al., 1997, 2003), potentially causing the amygdala and its related circuitry to malfunctioning in a context or CS specific manner. Recent work on animal models of fear show that considerable modulation of the fear circuit can be achieved through experiential factors, including stress (Fanselow and Poulos, 2005; McGaugh et al., 1999; Quirk and Gehler, 2003; Pare et al., 2004; Walker et al., 2003)

Summary. Here we show that an olfactory stimulus associated with infant trauma through classical conditioning gains control over fear learning and its underlying neural circuit. This suggests some enduring effects of infant trauma are learned (i.e. controlled by the odor CS present during infant conditioning) and are therefore potentially more amenable to clinical intervention.

Acknowledgements: This work was supported NICHD HD33402, OCAST to RMS and Eurodoc grant to YS.

References

Barr GA (1995): Ontogeny of nociception and antinociception. NIDA Res Monogr 158:172-201.

Bachara A, Damasio H, Damasio AR, Lee GP (1999): Different contributions of the human amygdala and ventromedial prefrontal cortex to decision –making. J Neurosci 19:5478-5481.

Balleine BW, Killcross AS, Dickinson A (2003): The effect of lesions of the basolateral amygdala on instrumental conditioning. J Neurosci 23:666-675.

Baxter MG, Parker A, Lindner CCC, Izquierdo AD, Murray EA (2000): Control of Response Selection by Reinforcer Value Requires Interaction of Amygdala and Orbital Prefrontal Cortex. J Neurosci 20:4311-4319.

Berdel B, Morys J (2000): Expression of calbindin-D28k and parvalbumin during development of rat's basolateral amygdaloid complex. Int J Dev Neurosci 18:501-513.

Berdel B, Morys J, Maciejewska B (1997): Neuronal changes in the basolateral complex during development of the amygdala of the rat. Int J Dev Neurosci 15: 755-65.

Blozovski D, Cudennec A (1980): Passive avoidance learning in the young rat. Dev Psychobiol 13:513-18.

Bouwmeester H, Smits K, Van Ree JM (2002): Neonatal development of projections to the basolateral amygdala from prefrontal and thalamic structures in rat. J Comp Neurol 450: 241-255.

Brasser SM, Spear NE (2004): Contextual conditioning in infants, but not older animals, is facilitated by CS conditioning. Neurobiol Learn Mem 81:46-59.

Bremner JD, Vermetten E, Schmahl C, Vaccarino V, Vythilingam M, Afzal N, Grillon C, Charney DS (2005): Positron emission tomographic imaging of neural correlates of a fear acquisition and extinction paradigm in women with childhood sexual-abuse-related post-traumatic stress disorder. Psychol Med 35:791-806.

Brennan PA, Keverne EB (1997): Neural mechanisms of mammalian olfactory learning. Prog Neurobiol 51:457-51.

Camp LL, Rudy JW (1988): Changes in the categorization of appetitive and aversive events during postnatal development of the rat. Dev Psychobiol 2:25-42.

Collier AC, Mast J, Meyer DR, Jacobs CE (1979): Approach-avoidance conflict in preweanling rats: A developmental study. Anim Learn Behav 7:514-520.

Collier AC, Bolles RC (1980): The ontogenesis of defensive reactions to shock in preweanling rats. Dev Psychobiol 13:141-50.

Coopersmith R, Leon M (1986): Enhanced neural response by adult rats to odors experienced early in life. Brain Res 371:400-403.

Coopersmith, R., Lee, S., and Leon, M. (1986): Olfactory bulb responses after odor aversion learning by young rats. Brain Res. 389 (1-2)::271-277

Coplan JD, Andrews MW, Rosenblum LA, Owens MJ, Friedman S, Gorman JM, Nemeroff CB (1996): Persistent elevations of cerebrospinal fluid concentrations of corticotropin-releasing factor in adult

nonhuman primates exposed to early-life stressors: implications for the pathophysiology of mood and anxiety disorders. Proc Natl Acad Sci USA 93: 1619-1623.

Cousens G, Otto T. (1998): Both pre- and posttraining excitotoxic lesions of the basolateral amygdala abolish the expression of olfactory and contextual fear conditioning. Behav Neurosci 112: 1092-1103.

Crain B, Cotman C, Taylor D, Lynch G (1973): A quantitative electron microscopic study of synaptogenesis in the dentate gyrus of the rat. Brain Res 63:195-204.

Cunningham MG, Bhattacharyya S, Benes FM (2002): Amygdalo-cortical sprouting continues into early adulthood: implications for the development of normal and abnormal function during adolescence. J Comp Neurol 453: 116-30.

Davis M, Walker DL, Myers KM (2003): Role of the amygdala in fear extinction measured with potentiated startle. Ann NY Acad Sci 985:218-232.

Davis M, Whalen PJ (2001): The amygdala: vigilance and emotion. Molecular Psychiatry 6:13-34

Debiec J, LeDoux JE (2004): Disruption of reconsolidation but not consolidation of auditory fear conditioning by noradrenergic blockade in the amygdala. Neurosci 129:267-72.

Denenberg VH (1963): Early experience and emotional development. Scientific American 208:138-46.

DiRocco RJ, Hall WG (1981): Metabolic neural mapping in neonatal rats. J Neurosci Res 6:13-19.

Doron NN, LeDoux JE (1999): Organization of projections to the lateral amygdala from auditory and visual areas of the thalamus in rat. J Comp Neurol 412:383-409.

Drevets WC (2003): Neuroimaging Abnormalities in the Amygdala in Mood Disorders The Amygdala in Brain Function: Basic and Clinical Approaches. Ann N Y Acad Sci 985:420-444.

Dumery V, Blozovski D (1986): Development of amygdaloid cholinergic mediation of passive avoidance learning in the rat: Muscarinic mechanisms Development of amygdaloid cholinergic mediation of passive avoidance learning in the rat. Exp Brain Res 67:61-69.

Dumery V, Derer P, Blozovski D (2004): Enhancement of passive avoidance learning through small doses of intra-amygdaloid physostigmine in the young rat. Its relation to the development of acetylcholinesterase Dev Psychobiol 21:553 – 565.

Duvarci S, Nader K (2004): Characterization of fear memory reconsolidation. J Neurosci 24: 9269-9275.

Drevets WC (2003): Neuroimaging Abnormalities in the Amygdala in Mood Disorders The Amygdala in Brain Function: Basic and Clinical Approaches. Ann N Y Acad Sci 985:420-444.

Emerich DF, Scalzo FM, Enters EK, Spear N, Spear L (1985): Effects of 6-hydroxydopamine-induced catecholamine depletion on shock-precipitated wall climbing of infant rat pups. Dev Psychobiol 18:215-27.

Fanselow MS, LeDoux JE (1999): Why we think plasticity underlying Pavlovian fear

conditioning occurs in the basolateral amygdala. Neuron 23:229-232.

Fanselow MS, Gale GD (2003): The amygdala, Fear, and Memory. Ann N Y Acad Sci, 985:125-134.

Fanselow M, Poulos AM (2005): The neuroscience of mammalian associative learning. Ann Rev Psychol 56:207-234.

Fleming AS, O'Day DH, Kraemer GW (1999): Neurobiology of mother-infant interactions: experience and central nervous system plasticity across development and generations. Neurosci Biobehav Rev 23:673-85.

Francis DD, Caldji C, Champagne F, Plotsky PM, Meaney MJ (1999): The role of corticotropin-releasing factor-norepinephrine systems in mediating the effects of early experience on the development of behavioral and endocrine responses to stress. Biol Psychiatry 46:1153-66.

Frick PJ (1998): Callous-unemotional traits and conduct problems: applying the two-factor model of psychopathy to children: IN: Cooke DJ, Forth AE, Hare RD eds): Psychopathology: Theory, Research and implications for society. Dordrecht, Netherlands: Kluwer Academic Publishers, pp 161-188.

Gallagher M, McMahan RW, Schoenbaum G. (1999): Orbitofrontal cortex and representation of incentive value in associative learning. J Neurosci 19:6610-6614.

Goosens KA, Maren S (2001): Contextual and auditory fear conditioning are mediated by the lateral, basal, and central amygdaloid nuclei in rats. Learn Mem 8:148-55.

Gross C, Hen R (2004): The developmental origins of anxiety. Nature Rev Neurosci 5:545-552.

Gutman DA, Nemeroff CB (2002): Neurobiology of early life stress: Rodent studies. Semin Clin Neuropsychiatry 7:89-95.

Hare RD (1965): Psychopathology, fear arousal and anticipated pain. Psychol Rep 16: 499-502.

Hare RD (1982): Psychopathy and physiological activity during anticipation of an aversive stimulus in a distraction paradigm. Psychophysiology 19:266-271.

Hare RD, McPherson LM (1984): Violent and aggressive behavior by criminal psychopaths. Special Issue: Empirical approaches to law and psychiatry. Intern J Law and Psychiatry 15:165-172.

Hare RD, Quinn MJ (1971): Psychopathology and autonomic conditioning. J Abnormal Psychology 77: 223-235.

Harlow HF, Harlow MK (1965): The affectional systems. In: Behavior of Nonhuman Primates, Vol. 2 (Schrier A, Harlow HF, Stollnitz F, eds), New York: Academic Press.

Haroutunian V, Campbell BA (1979): Emergence of interoceptive and exteroceptive control of behavior in rats. Science 205:927-29.

Hartfield T, Han JS, Conley M, Gallagher M, Holland P (1996): Neurotoxic lesions of the basolateral, but not central, amygdala interfere with Pavlovian second-order conditioning and reinforcer-devaluation effect. J Neurosci 16:5256-5265.

Heim C, Owens MJ, Plotsky PM, Nemeroff CB (1997): Persistent changes in

corticotropin-releasing factor systems due to early life stress: relationship to the pathophysiology of major depression and post-traumatic stress disorder. Psychopharmacol Bull 33: 185-192.

Heim C, Nemeroff CB (2001): The role of childhood trauma in the neurobiology of mood and anxiety disorders: Preclinical and clinical studies. Biol Psychiatry 49: 1023-39.

Helfer ME, Kempe RS, Krugman RD (1997): The battered child. University of Chicago Press.

Herzog C, Otto T (1997): Odor-guided fear conditioning in rats: 2. Lesions of the anterior perirhinal cortex disrupt fear conditioned to the explicit conditioned stimulus but not to the training context. Behav Neurosci 111:1265-72.

Hess EH (1962): Ethology: an approach to the complete analysis of behavior. In: New directions in psychology (Brown R, Galanter, E, Hess, EH and Mendler, G) Holt, Rinehart and Winston, New York.

Hess US, Gall CM, Granger R, Lynch G (1997): Differential patterns of c-fos mRNA expression in amygdala during successive stages of odor discrimination learning. Learn Mem 4:262-283.

Hofer MA (1996): Multiple regulators of ultrasonic vocalization in the infant rat. Psychoneuroendocrinology 21:203-17.

Hofer MA, Sullivan RM (2001): Toward a neurobiology of attachment. In C.A. Nelson and M. Luciana (Eds.), Handbook of developmental cognitive neuroscience (pp. 599-616). Cambridge, MA: MIT Press.

Holland M, Gallagher, P (2004): Amygdala-frontal interactions and reward expectancy. Curr Opinion Neurobiol 14:148-155.

Insel TR, Young LJ (2001): The neurobiology of attachment. Nat Rev Neurosci 2: 129-36.

Jaffee S, Caspi A, Moffitt TE, Taylor A (2004): Physical maltreatment victim to antisocial Child: evidence of an environmentally mediated process. J Abnorm Pcychol 113:44-55.

Jones, S.V, Rattiner, L.S. and Ressler, K.J. (2006): Functional anatomy of synaptic plasticity mediating olfactory learning. The Association for chemoreception Sciences (ACHemS) Sarasota, Florida.

Kiehl KA, Smith AM, Hare RD, Mendrek A, Forster BB, Brink J, Liddle PF (2001): Criminal psychopaths as revealed by functional magnetic resonance imaging. Biol Psychiatry 50:677-684.

LeDoux J (2003): The emotional brain, fear, and the amygdala. Cell Mol Neurobiol, 23:727-38.

Levine S (1962): The effects of infantile experience on adult behavior. In: Experimental Foundations of Clinical Psychology, A.J. Bachrach (Ed.). New York: Basic Books, 139-169.

Litaudon P, Mouly A, Sullivan R, Gervais R, Cattarelli M (1997): Learning-induced changes in rat piriform cortex activity mapped using multisite recording with voltage sensitive dye. Eur J Neurosci 9:1593-1602.

Maestripieri D, Tomaszycki M, Carroll KA (1999): Consistency and change in the

behavior of rhesus macaque with successive infants. Dev Psychobiol 34:29-35.

Maren S (2003): The amygdala, synaptic plasticity, and fear memory. Ann NY Acad Sci 985:106-113.

McGaugh JL (2004): The amygdala modulates the consolidation of memories of emotionally arousing experiences. Ann Rev Neurosci 27:1-28.

McGaugh JL, Roozendaal B, Cahill L (1999): Modulation of memory storage by stress hormones and the amygdaloid complex. In: M. Gazzaniga (Eds.), Cognitive Neuroscience, 2nd edition, Cambridge, MIT Press, 1999.

Milad MR, Vidal-Gonzalez I, Quirk GJ (2004): Electrical Stimulation of Medial Prefrontal Cortex Reduces Conditioned Fear in a Temporally Specific Manner. Behav Neurosci 118: 389 –394

Mizukawa K, Tseng I-Ming, Otsuka N (1989): Quantitative electron microscopic analysis of postnatal development of zinc-positive nerve endings in the rat amygdala using Timm's sulphide silver technique. Dev Brain Res 50:197-203.

Moriceau S, Sullivan RM (2004): Corticosterone influences on mammalian neonatal sensitive-period learning. Behav Neurosci 118:274-281.

Moriceau S, Sullivan RM (2005): Neurobiology of Attachment. Dev Psychobiol 47:230-242.

Moriceau S, Sullivan RM (submitted): Maternal Presence Serves to Switch between Learning Love and Hate in Infancy.

Moriceau S, Wilson DA, Levine S and Sullivan RM (submitted): Dual circuitry for odor-shock conditioning during infancy: Corticosterone switches between fear and attraction via amygdala.

Morys J, Berdel B, Jagalska-Majewska H, Luczynska A (1999): The basolateral amygdaloid complex--its development, morphology and functions. Folia Morph, 58:29-46.

Myslivecek J (1997): Inhibitory learning and memory in newborn rats. Prog Neurobiol 53:399-430.

Nader K, Schafe GE, Le Doux JE (2000): Fear memories require protein synthesis in the amygdala for reconsolidation after retrieval. Nature 406:722-726.

Nair HP, Gonzalez-Lima F (1999): Extinction of behavior in infant rats: Development of functional coupling between septal, hippocampal, and ventral tegmental regions. J Neurosci 19:8646-55.

Nestler EJ, Barrot M, DiLeone RJ, Eisch AJ, Gold SJ, Monteggia LM (2002): Neurobiology of depression. Neuron 34:13-25.

Nudo RJ, Masterton RB (2004): Stimulation-induced [$_{14}$C]2-deoxyglucose labeling of synaptic activity in the central auditory system. J Comp Neurol 245:553-565.

Otto T, Giardino ND (2001): Pavlovian Conditioning of Emotional Responses to Olfactory and Contextual Stimuli: A Potential Model for the Development and Expression of Chemical Intolerance. Ann N Y Acad Sci 933:291-309.

Otto T, Cousens G, Herzog C (2000): Behavioral and neuropsychological

foundations of olfactory fear conditioning. Behav Brain Res 110:119-128.

Pare D, Quirk GJ, LeDoux JE (2004): New vistas on amygdala networks in conditioned fear. J Neurophysiol 92:1-9.

Patrick CJ (1994): Emotion and psychopathy: Startling new insights. Psychophysiology 31:319-330.

Patrick CJ, Bradley MM, Lang PJ (1994): Emotions in the criminal psychopath: startle reflex modulation. J Abnormal Psychology 102:82-92.

Paxinos G, Watson C (1986): The rat brain in stereotaxic coordinates. San Diego: Academic Press.

Pickens CL, Saddoris MP, Gallagher M, Holland P (2005): Orbitofrontal lesions impair use of cue-outcome associations in a devaluation task. Behav Neurosci 119:317-322.

Pollak SD (2003): Experience-dependent affective learning and risk for psychopathology in children. Ann N Y Acad Sci 1008:102-111.

Quirk GJ, Gehlert DR (2003): Inhibition of the amygdala: key to pathological states? Ann N Y Acad Sci 985:263-272.

Rajecki DW, Lamb ME, Obmascher P (1978): Towards a general theory of infantile attachment: A comparative review of aspects of the social bond. Behav Brain Sci 3:417-64.

Rhee SH, Waldman ID (2002): Genetic and environmental influences on antisocial behavior: A meta-analysis of twin and adoption studies. Psychol Bull 128:490–529.

Rosenkranz JA, Grace AA (2002): Dopamine-mediated modulation of odour-evoked amygdala potentials during pavlovian conditioning. Nature 417:282-287.

Roth T, Sullivan RM (2001): Endogenous opioids and their role in odor preference acquisition and consolidation following odor-shock conditioning in infant rats. Dev Psychobiol 39:188-98.

Roth T, Sullivan RM (2003): Consolidation and expression of a shock-induced odor preference in rat pups is facilitated by opioids. Physiol Behav 78:135-42.

Roth T, Sullivan RM (2005): Memory of early maltreatment: Neonatal behavioral and neural correlates of maternal maltreatment within the context of classical conditioning. Biol Psychiat 57:823-831.

Roth TL, Moriceau S, Sullivan, RM (submitted): Opioid modulation of neural circuitry supporting odor learning and memory in rat pups. Learn Mem

Rudy JW, Cheatle MD (1977): Odor aversion learning in neonatal rats. Science 198:845-46.

Rudy JW, Morledge P (1994): The ontogeny of contextual fear conditioning: Implications for consolidation, infantile amnesia, and hippocampal system function. Behav Neurosci 108:227-34.

Salzen EA (1979): The ontogeny of fear in animals. In W. Sluckin (Ed.) Fear in animals and man. New York, NY: Van Nostrand Reinhold.

Sananes CB, Campbell BA (1989): Role of the central nucleus of the amygdala in olfactory heart rate conditioning. Behav Neurosci 103:519-25.

Schettino LF, Otto T (2001): Patterns of Fos expression in the amygdala and ventral perirhinal cortex induced by training in an olfactory fear-conditioning paradigm. Behav Neurosci 115:1257-1272.

Schoenbaum G, Setlow B, Saddoris MP, Gallagher M (2003): Encoding predicted outcome and acquired value in orbitofrontal cortex during cue sampling depends upon input from basolateral amygdala. Neuron 39:855–867.

Schore AN (2005): Back to Basics: Attachment, Affect Regulation, and the Developing Right Brain: Linking Developmental Neuroscience to Pediatrics. Pediatr Rev 26:204 -217.

Schulz B, Fendt M, Richardson R, Schnitzler H (2004): Temporary inactivation of the perirhinal cortex by muscimol injections block acquisition and expression of fear-potentiated startle. Eur J Neurosci 19:713-720.

Schwob JE, Price JL (1984): The development of axonal connections in the central olfactory system of rats. J Comp Neurol 223:177-202.

Sevelinges Y, Gervais R, Messaoudi B, Granjon L, Mouly AM (2004): Olfactory fear conditioning induces field potential potentiation in rat olfactory cortex and amygdala. Learn Mem 11:761-769.

Sheline YI, Barch DM, Donnelly JM, Ollinger JM, Snyder AZ, Mintun MA (2001): Increased amygdala response to masked emotional faces in depressed subjects resolves with antidepressant treatment: an fMRI study. Biol Psychiatry 50:651-658.

Sotres-Bayon F, Bush DEA, LeDoux JE (2004): Emotional Perseveration: An Update on Prefrontal-Amygdala Interactions in Fear Extinction. Learn Mem 11:525-535.

Sotres-Bayon F, Cain CK, Ledoux JE. (2006): Brain Mechanisms of Fear Extinction: Historical Perspectives on the Contribution of Prefrontal Cortex. Biol Psychiatry Jan 11; [Epub ahead of print]

Stanley WE (1962): Differential human handling as reinforcing events and as treatments influencing later social behavior in basenji puppies. Psychol Reports 10:775-788.

Stanton ME (2000): Multiple memory systems, development and conditioning. Behav Brain Res 110:25-37.

Stehouwer DJ, Campbell BA (1978): Habituation of the forelimb-withdrawal response in neonatal rats. J Exp Psychol Anim Behav Processes 4:104-19.

Sullivan RM, Wilson DA (1991): Neural correlates of conditioned odor avoidance in infant rats. Behav Neurosci 105:307-312.

Sullivan RM, Wilson DA (1995): Dissociation of behavioral and neural correlates of early associative learning. Dev Psychobiol 28:213-219.

Sullivan RM, Hofer MA, Brake SC (1986b): Olfactory-guided orientation in neonatal rats is enhanced by a conditioned change in behavioral state. Dev Psychobiol 19:615-23.

Sullivan RM, Landers M, Yeaman B, Wilson DA (2000): Good memories of bad events in infancy. Nature 407:38-39.

Tang AC, Reeb BC, Romeo RD, McEwen BS (2003): Modification of Social Memory,

Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis, and Brain Asymmetry by Neonatal Novelty Exposure. J Neurosci 23:8254-8260.

Teicher MH, Ito Y, Gold CA, Andersen SL, Dumont N, Ackerman E (1997): Preliminary evidence for abnormal cortical development in physically and sexually abused children using EEG coherence and MRI. Ann N Y Acad Sci 821: 160-75.

Teicher MH, Andersen SL, Polcari A, Anderson CM, Navalta CP, Kim DM (2003): The neurobiological consequences of early stress and childhood maltreatment. Neurosci Biobehav Rev 27:33-44.

Van Eden CG, Uylings HBM (2004): Cytoarchitectonic development of the prefrontal cortex in the rat. J Comp Neurol 241:253-267.

Verwer RW, Van Vulpen EH, Van Uum JF (1996): Prefrontal development of amygdaloid projections to the prefrontal cortex in the rat studied with retrograde and anterograde tracers. J Comp Neurol 376: 75-96.

Viding E (2004): Annotation: Understanding the development of psychopathy. J Child Psychol Psychiat 45:1329-1337.

Walker DL, Toufexis DJ, Davis M (2003): Role of the bed nucleus of the stria terminalis versus the amygdala in fear, stress, and anxiety. Eur J Pharmacol 463:199-216.

Winkler RL, Hays WL (1975): Sampling theory, experimental design, and analysis of variance. In: Statistics probability, interference and decision. P782-783.

Yaniv D, Schafe GE, LeDoux JE, Richter-Levin G (2001): A gradient of plasticity in the amygdala revealed by cortical and subcortical stimulation, in vivo. Neurosci 106:613-620.

Ziabreva I, Poeggel G, Schnabel R, Braun K (2003): Separation-oinduced receptor changes in the hippocampus and amygdala of Octodon degus: Influence of maternal vocalization. J Neurosi 23:5329-5336.

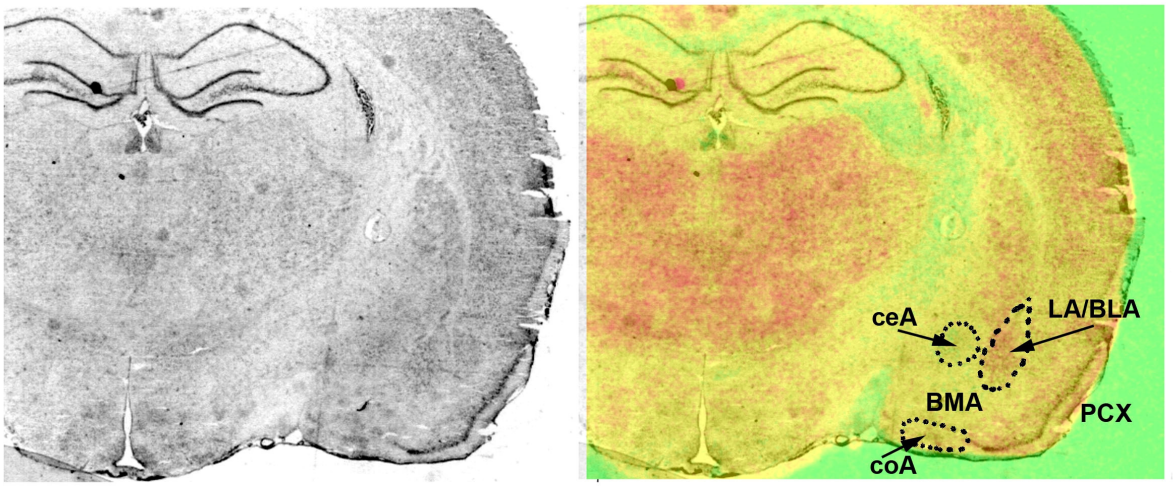


Figure 1

(Left) Dark-field image of the cresyl violet stained section alone, showing the clear contrast of individual amygdala nuclei. (Right) Pseudocolor autoradiograph of C^{14} 2-DG uptake in an adult during odor-shock training overlayed on a dark-field image of the same section stained with cresyl violet. The individual nuclei are outlined and labeled in the right image to indicate where optical densitometric measurements were made in this study.

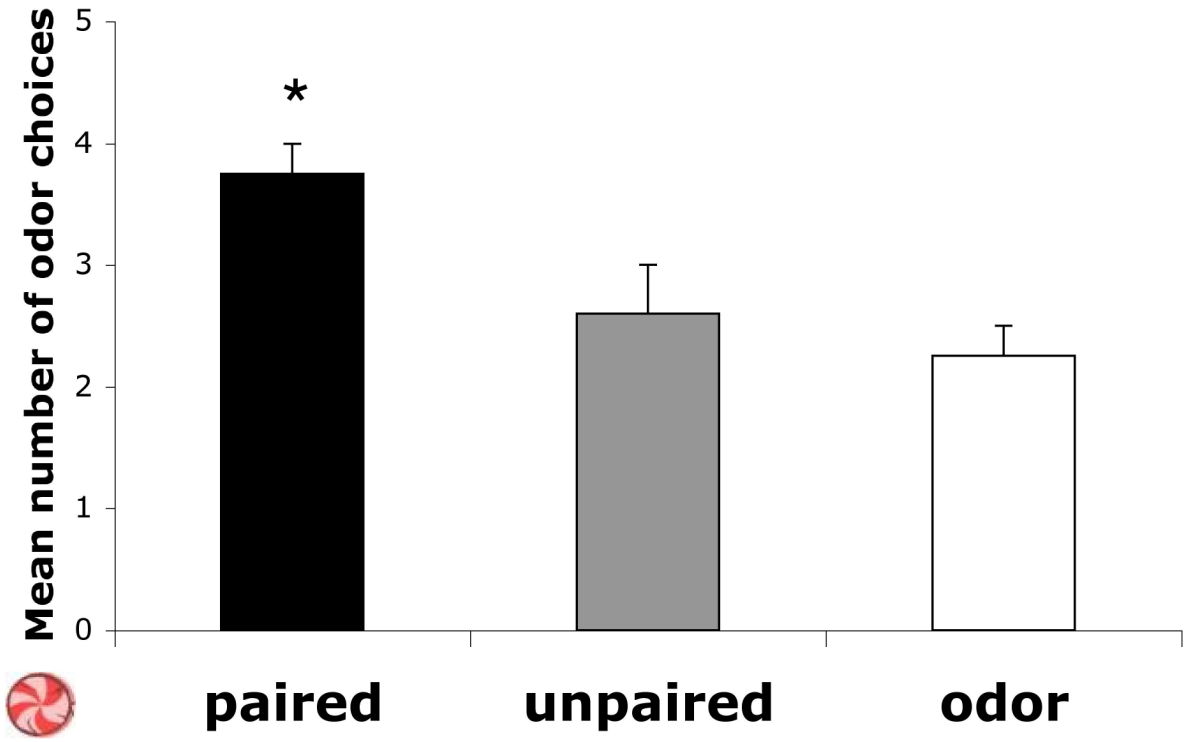


Figure 2
Mean (± SEM) time spent over conditioned stimulus (CS) odor by PN13 pups during the Y-maze test following infant odor-shock conditioning. Asterisk represents a significant difference from each of the other groups ($p<0.05$).

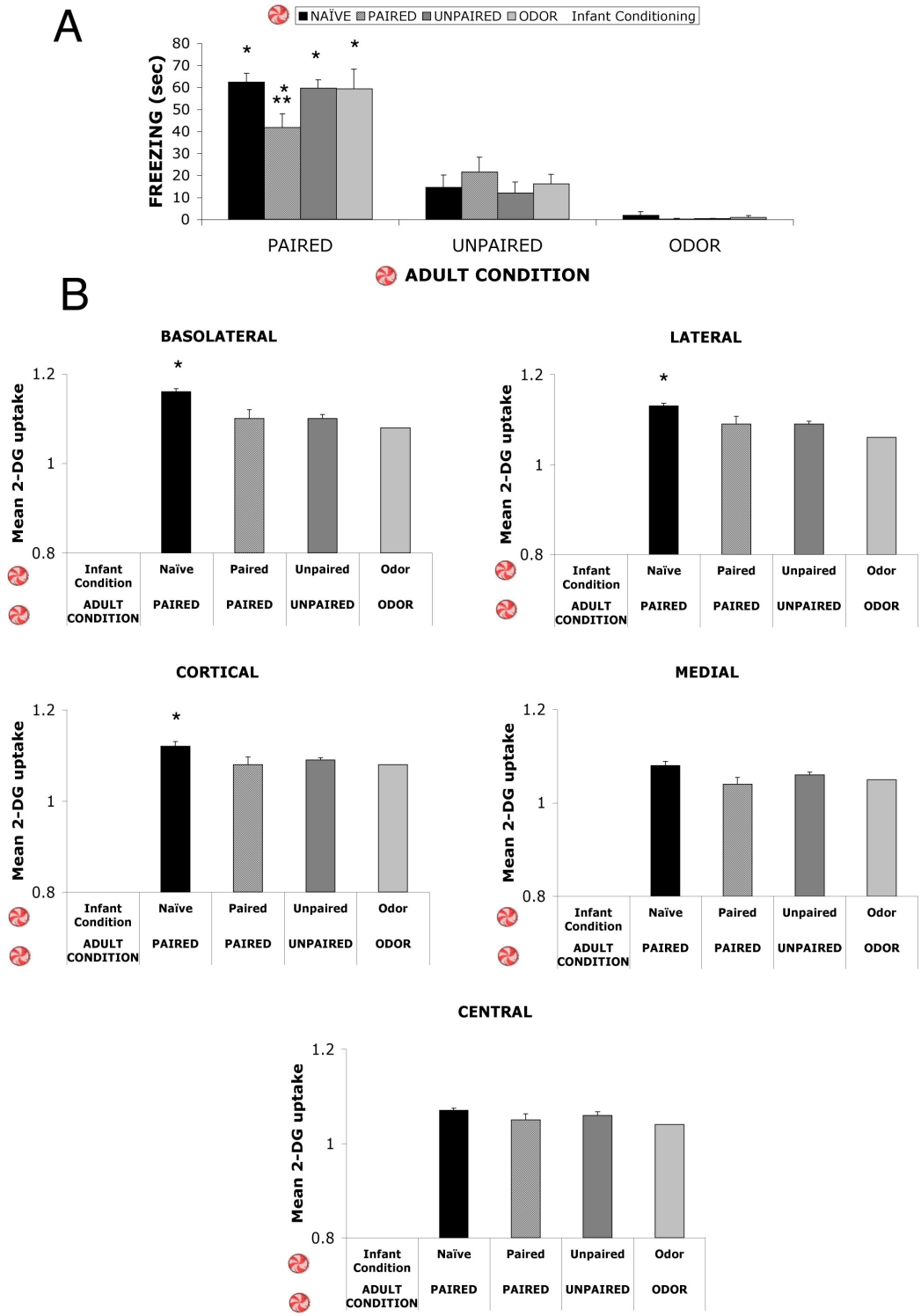


Figure 3

Following infant odor-shock conditioning, adult rats were reconditioned using the same CS. (A) Freezing (±SEM) during the peppermint CS cue test in a novel environment for the 4 Adult Paired groups (black bars), 4 Adult Unpaired groups (grey bars) and the Adult Odor Only groups (white bars), as a function of infant training (Paired, Unpaired, Odor, Naïve). (B) Mean relative 2-DG uptake (±SEM) in amygdala nuclei during adult fear conditioning following infant odor-shock conditioning. One asterisk represents significant differences from each of the control groups and two asterisks represent significant differences from other adult paired conditioning (at least, $p<0.05$).

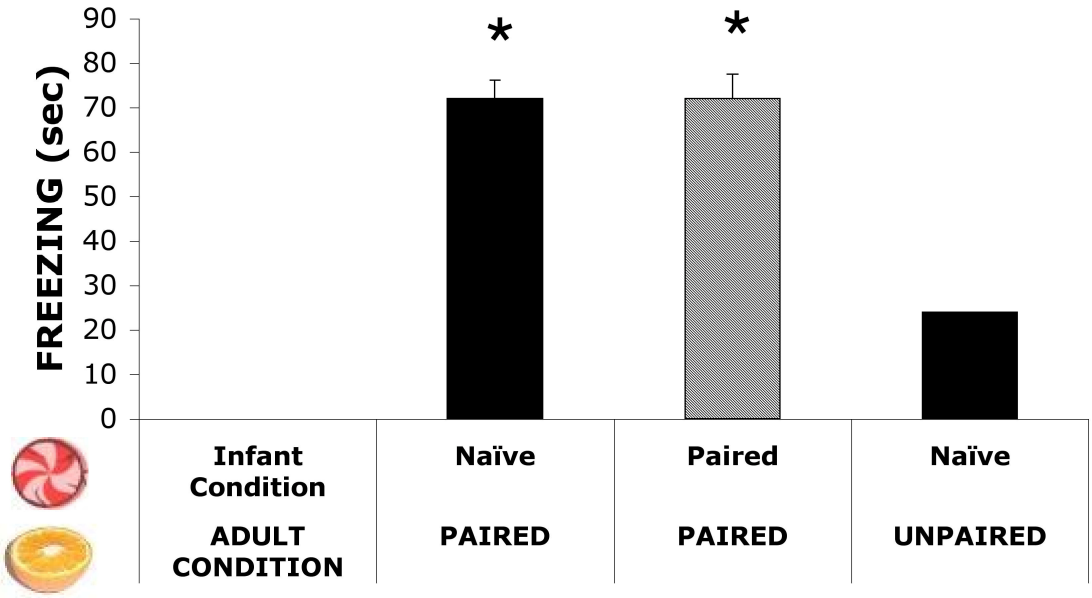


Figure 4

Following infant odor-shock conditioning with peppermint odor, adult rats were reconditioned using a novel citral CS odor. Freezing (±SEM) during the citral CS cue test (novel environment) as a function of infant and adult training. Asterisk represents a significant difference from the unpaired group ($p<0.05$).

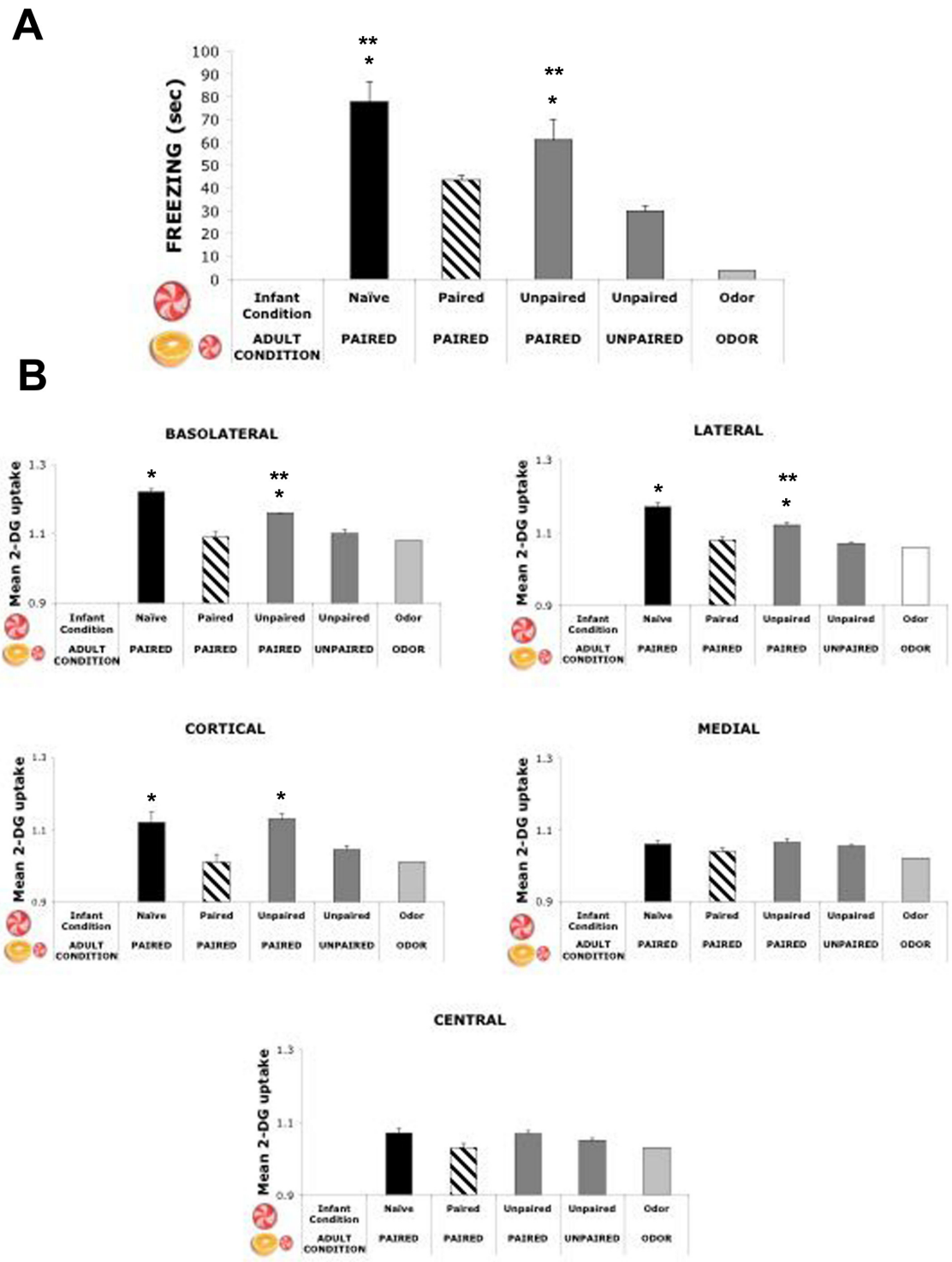


Figure 5

Following infant odor-shock conditioning with peppermint odor, adult rats were reconditioned using a novel citral CS odor, with peppermint odor continuously present as context. (A) Freezing (±SEM) during the citral CS cue test in a novel environment as a function of infant and adult training. The infant peppermint odor was not present during testing. (B) Mean relative 2-DG uptake (±SEM) in amygdala nuclei during adult fear conditioning following infant odor-shock conditioning. One asterisk represents significant differences from all other groups and two asterisks represent significant differences from one another (at least, $p<0.05$).

5.6. Résultats supplémentaires: étude du cortex piriforme

5.6.1. Hypothèse de travail

Lors de notre étude électrophysiologique, nous avions mis en évidence une plasticité liée à l'apprentissage de PCO dans le CPp. Pour cette raison, dans la première étude, nous avons mesuré la captation de 2-DG dans le cortex piriforme pour les différents groupes expérimentaux lors du CPO à l'âge adulte. Dans cette étude par imagerie cellulaire, nous avons voulu savoir si, à l'aide d'une méthode différente, la même dissociation fonctionnelle serait observée.

5.6.2. Résultats

Une ANOVA à un facteur (groupe) a été réalisée pour le CPa et le CPp. Les résultats sont montrés sur la Figure 5.6.

Pour le CPa, l'ANOVA ne montre pas de différences significatives entre les quatre groupes ($F_{(3, 15)} = 0,963$, $p = 0,4359$).

Pour le CPp en revanche, l'ANOVA montre un effet significatif du groupe ($F_{(3, 15)} = 3,901$, $p = 0,0304$). Des tests post-hoc de Fisher ont montré une différence significative entre les groupes Naïve-Paired et Paired-Paired ($p = 0,0260$), Naïve-Paired et Odor-Odor ($p = 0,0071$) et une tendance entre les groupes Naïve-Paired et Unpaired-Unpaired ($p = 0,0540$). Les animaux du groupe Paired-Paired montrent le même niveau d'activation que ceux des deux groupes témoins, c'est-à-dire les groupes Unpaired-Unpaired ($p=0,6313$) et Odor-Odor ($p=0,5636$). Ces deux derniers ne diffèrent pas entre eux ($p=0,2835$).

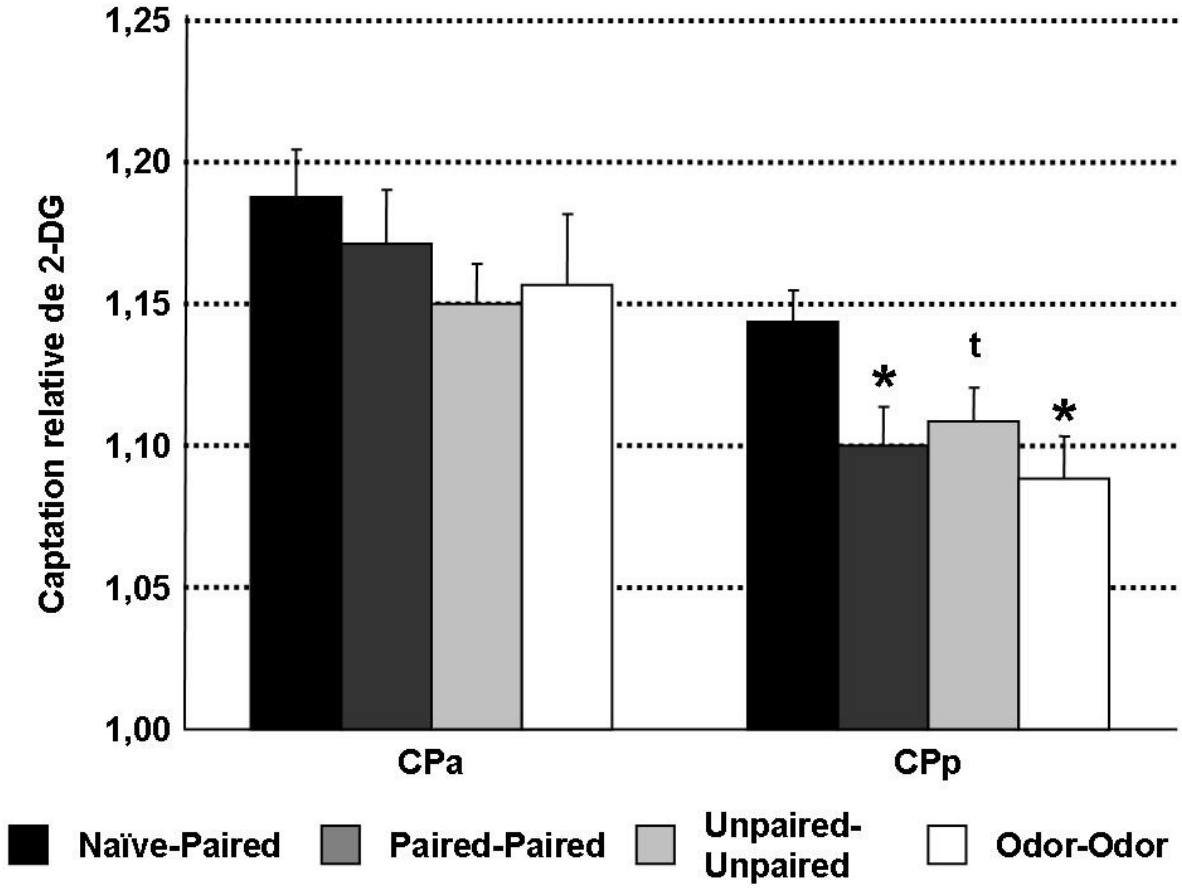


Figure 5.6 Mesure en 2-DG de l'activation du cortex piriforme antérieur (CPa) et postérieur (CPp) lors du conditionnement à l'âge adulte

* : différence significative par rapport au groupe Naive-Paired

t : tendance à la différence significative par rapport au groupe Naive-Paired

5.6.3. Discussion

L'étude du cortex piriforme nous a permis de mettre en évidence deux points importants:

- tout d'abord, chez les animaux conditionnés témoins (Naïve-Paired), l'apprentissage de PCO s'accompagne d'une activation du CPp lors de la phase de conditionnement. Ces données corroborent celles obtenues par l'approche électrophysiologique qui montrait l'activation du CPp seul lors de la phase de rappel de l'apprentissage (Sevelinges, Gervais, Messaoudi, Granjon et Mouly, 2004). Cette activation ne peut pas être considérée comme le reflet d'un traitement perceptif de l'odeur puisqu'il n'y a pas d'activation de cette structure chez les animaux témoins des groupes Unpaired-Unpaired et Odor-Odor. Cette activation reflète donc sans doute un traitement mnésique du SC odorant.

Ainsi, comme nous l'avons montré dans la première expérience (Sevelinges, Gervais, Messaoudi, Granjon et Mouly, 2004), seul le CPp semble impliqué dans les processus mnésiques olfactifs.

- les déficits comportementaux observés chez les animaux adultes ayant eu l'expérience néonatale du conditionnement odeur-chocs, sont associés à une absence d'activation dans plusieurs noyaux amygdaliens, ainsi que dans le CPp. Il semble donc que l'expérience néonatale ait modifié le fonctionnement de plusieurs structures normalement impliquées dans le CPO.

5.7. Bilan des résultats de la deuxième étude

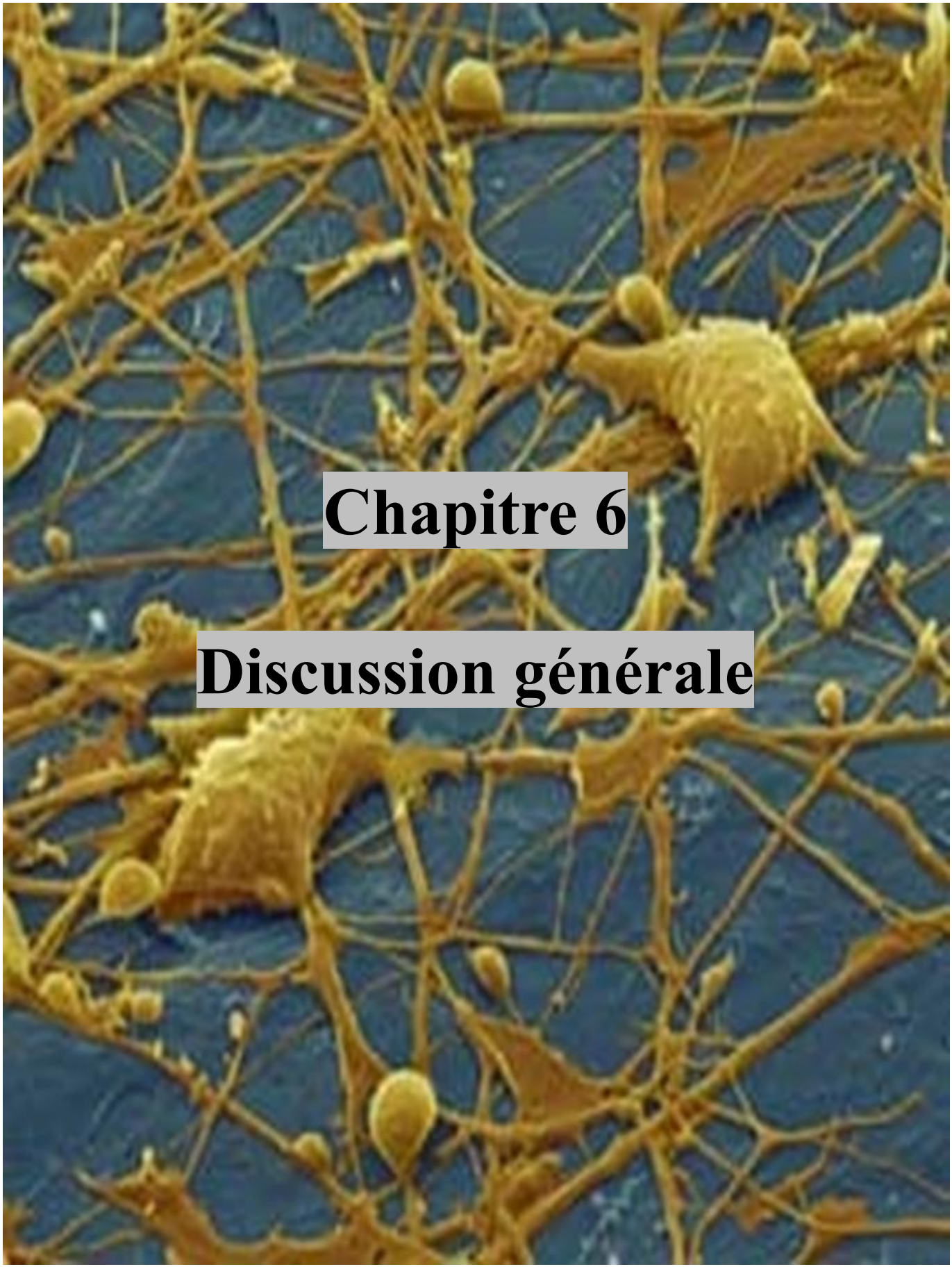
➢ Après avoir vérifié que le conditionnement odeur (menthe)-chocs avant PN10 entraînait bien une préférence paradoxale, nous avons étudié les conséquences de cet apprentissage sur l'acquisition et l'expression du même apprentissage à l'âge adulte. Nous avons mis en évidence qu'au niveau comportemental, les animaux qui avaient appris une préférence paradoxale en bas âge montrent un déficit d'expression de peur conditionnée à l'âge adulte lors du test de rappel. Ce déficit est spécifique de l'odeur apprise en bas âge puisque l'apprentissage de peur conditionnée à une odeur témoin, le citral (odeur de citron) n'est pas perturbé. En revanche, si cette deuxième expérience est effectuée avec l'odeur de menthe présente comme indice contextuel olfactif lors du conditionnement, l'apprentissage de peur au citral est atténué.

Ces données montrent qu'une odeur étiquetée comme positive en bas âge ne peut être que difficilement apprise comme aversive à l'âge adulte. Il est possible que les circuits cérébraux sous-tendant l'apprentissage de préférence avant PN10 existent toujours à l'état latent tout au long de la vie de l'animal. Cette préférence paradoxale maintenue, que l'odeur soit présente comme SC ou comme indice contextuel, pourrait d'une manière ou d'une autre, interférer avec la mise en place des circuits cérébraux sous-tendant l'apprentissage normal de PCO. Par ailleurs, bien que cela n'ait pas été testé, on peut supposer que l'amygdale des animaux conditionnés au cours de la période sensible est capable de fonctionner normalement pour permettre l'apprentissage normal de PCO de citral.

Une question est de savoir si l'odeur préférée n'agit que sur la modalité olfactive ou peut également perturber d'autres types d'apprentissage (apprentissage son-chocs par exemple). Ces suppositions nécessiteront des études supplémentaires.

➢ Les déficits comportementaux sont corrélés à un déficit d'activation des structures normalement activées lors de l'acquisition du CPO, c'est-à-dire l'amygdale (LA, BL et ACo) et le CPp pour le conditionnement adulte de peur à la menthe. Cependant, l'apprentissage n'est qu'atténué et pas aboli. Cela suppose donc la mise en place de circuits alternatifs qu'il reste à découvrir.

➢ Toutefois, l'ensemble des résultats de cette deuxième étude montre par une approche expérimentale nouvelle (odeur-chocs au cours de la période sensible) que les expériences précoces sont capables de perturber de façon durable les apprentissages à l'âge adulte. Cette expérience apporte une validation du paradigme odeur-chocs au cours de la période sensible comme modèle d'étude des conséquences adultes de maltraitances chez le nouveau-né.



Chapitre 6

Discussion générale

6.1. Rappel des résultats obtenus

Les travaux effectués au cours de cette thèse apportent des résultats nouveaux dans le domaine de la neurobiologie du conditionnement de peur à l'odeur. Nous avons abordé deux questions complémentaires: tout d'abord, quels sont les structures et les mécanismes qui sous-tendent cet apprentissage chez l'adulte ? Ensuite, quelles sont les conséquences d'un apprentissage odeur-chocs en bas âge sur ce même apprentissage à l'âge adulte ?

Pour répondre à la première question, nous avons utilisé une approche électrophysiologique, l'enregistrement de potentiels évoqués par des stimulations électriques du bulbe olfactif dans le cortex piriforme antérieur et postérieur et dans les noyaux basolatéral et cortical de l'amygdale sur l'animal vigile en comportement. Nous avons mis en évidence que l'apprentissage de peur conditionnée à l'odeur entraîne un renforcement durable de la transmission synaptique entre le bulbe olfactif et le noyau cortical de l'amygdale. En sus, au cours du traitement cognitif du stimulus conditionnel lors du test de rappel, une augmentation transitoire de cette transmission a été observée dans les noyaux cortical et basolatéral, ainsi que dans la partie postérieure du cortex piriforme. Ces données montrent pour la première fois chez l'animal vigile que l'amygdale basolatérale et surtout corticale sont impliquées dans la mise en mémoire et le traitement mnésique d'un stimulus olfactif devenu aversif par apprentissage. De plus, elles mettent en lumière le rôle de structures corticales, en l'occurrence le cortex piriforme postérieur, et confirment l'hypothèse d'une dissociation fonctionnelle dans le traitement mnésique entre les parties antérieure et postérieure de ce cortex.

Pour répondre à la deuxième question, nous avons soumis des ratons à un conditionnement odeur-chocs (odeur de menthe) au cours de la période sensible, connu pour entraîner une préférence à cette odeur. Une fois adulte, ces animaux furent reconditionnés soit avec la même odeur, soit avec une nouvelle odeur. Dans ce dernier cas, nous avions deux situations expérimentales: soit l'odeur apprise en période néonatale était présente comme indice contextuel lors du conditionnement, soit elle était absente. Nous avons mesuré d'une part les performances comportementales des animaux et d'autre part les niveaux d'activation des différents noyaux amygdaliens et du cortex piriforme suite au conditionnement à l'aide de la méthode 2-DG. Les résultats ont montré une altération de l'apprentissage de peur chez

l'adulte lorsque l'odeur apprise en période néonatale est présente lors du conditionnement adulte, soit en tant que stimulus conditionnel, soit en tant qu'indice contextuel. Ces déficits comportementaux sont corrélés à des déficits d'activation des noyaux latéral, basal et cortical de l'amygdale ainsi que du cortex piriforme postérieur. Ces données montrent que les expériences précoces peuvent modifier le traitement émotionnel de certains stimuli à l'âge adulte.

6.2. Peur et odeur: rôle des structures limbiques et corticales

Comme nous l'avons vu aux chapitres trois et quatre, l'apprentissage de peur conditionnée, aussi simple soit-il, repose sur l'activité de nombre de structures cérébrales, à la fois corticales (cortex frontal, entorhinal, piriforme, auditif…) et limbique avec notamment l'amygdale.

Pour notre part, dans les études électrophysiologique et métabolique, nous avons mis en évidence l'implication du cortex piriforme postérieur et des noyaux basolatéral et cortical de l'amygdale. Ces données nous amènent à proposer que le circuit cérébral impliqué dans le CPO pourrait recouvrir, sur certains points seulement, le modèle classique décrit par le conditionnement de peur au son de Joseph LeDoux. Faisons donc un rappel de ce modèle, présentant notamment le noyau latéral comme LE lieu d'association et de stockages informations.

6.2.1. Rappel de la théorie de Joseph LeDoux

Dans sa théorie sur l'apprentissage de peur conditionnée au son, Joseph LeDoux place le noyau latéral de l'amygdale comme pied de voûte (pour revue, voir LeDoux, 2000).

Lors d'un conditionnement entre un son et des chocs électriques aux pattes, les informations nociceptives et auditives convergent dans ce noyau amygdalien. L'information auditive atteint l'amygdale soit directement via le thalamus auditif, soit avec une synapse supplémentaire via le cortex auditif. La voie directe est appelée *voie rapide et grossière* car

elle est peu spécifique mais permet un déclenchement rapide des réponses conditionnées. La voie passant par le cortex est la voie *lente et précise* et effectue un traitement plus fin du stimulus. Cette voie permet d'inhiber d'éventuelles réponses conditionnées déclenchées à tort par la voie rapide. Le noyau latéral se projette ensuite sur le noyau central. Ce noyau permet la mise en place des réponses conditionnées comportementales et neurovégétatives via ses projections sur de nombreuses structures du tronc cérébral (voir Figure 3.6 p.89). Selon cette théorie, le noyau latéral est le lieu où se fait l'association entre les stimuli conditionnel et inconditionnel mais également le lieu où elle est consolidée et retenue à long-terme.

Cependant, les particularités anatomiques de connexion entre le système olfactif et l'amygdale laissent supposer que cette théorie pourrait ne pas être vraie dans ce système sensoriel. Voyons les conclusions que nous pouvons tirer et les hypothèses que nous pouvons émettre au vu de nos résultats.

6.2.2. Rôle de l'ACo, une spécificité de l'olfaction?

Tout d'abord, le bulbe olfactif est connecté à l'amygdale et au cortex piriforme sans relais thalamique. On ne peut donc pas parler de voies *thalamus → amygdale* ou *thalamus → cortex → amygdale*. On parlera plutôt de voies *BO → amygdale* et *BO → cortex → amygdale*. De plus, dans le système olfactif, le complexe basolatéral n'est pas la structure de projection directe comme elle l'est dans les autres systèmes. Les noyaux amygdaliens atteints de façon monosynaptique par le bulbe olfactif sont le cortex périamygdalien et le noyau cortical (Swanson et Petrovich, 1998). Le bulbe olfactif atteint donc le complexe basolatéral (qui se projette sur le noyau central) via les voies disynaptiques principales suivantes:

BO → PAC → BLA → Ce (Savander, Pitkanen et LeDoux, 1996)

BO → ACo → BLA → Ce (Swanson et Petrovich, 1998)

BO → cortex périrhinal → BLA → Ce (Burwell et Amaral, 1998; Luskin et Price, 1983b).

De même, à la différence du système auditif où le cortex auditif se projette de façon monosynaptique sur le complexe basolatéral (LeDoux, 2000), le cortex piriforme ne s'y projette directement que de façon marginale. Les deux voies principales pour l'atteindre via le cortex piriforme sont le cortex périrhinal et le noyau cortical (pour revue, voir Otto, Cousens et Herzog, 2000). Au vu de ces particularités anatomiques, il n'est guère surprenant d'avoir

mis en évidence l'implication du noyau cortical dans l'acquisition (étude métabolique) et l'expression (étude électrophysiologique) de l'apprentissage de peur conditionnée à l'odeur.

Par ailleurs, à la différence du système auditif dans lequel le noyau latéral est le noyau de projection principal au sein du BLA, dans le système olfactif, le noyau cortical (Sah, Fabez, Lopez de Armentia et Power, 2003) se projette essentiellement sur le noyau basal (Swanson et Petrovich, 1998). Seul le cortex périamygdalien se projette directement sur le noyau latéral (Savander, LeDoux et Pitkanen, 1996). Enfin, le cortex piriforme ne se projette que très peu sur le noyau latéral, la majorité de ses efférences se font au niveau du noyau cortical et du cortex périamygdalien (McDonald, 1998). Au vu de l'ensemble de ces données, on peut, avec toutes les retenues qu'impose le manque d'expériences dans la littérature, émettre au minimum l'hypothèse que ***dans le système olfactif, le noyau latéral ne joue pas seul le rôle d'intégration entre les stimuli conditionnels et inconditionnels***. Il est tout à fait envisageable que les structures amygdaliennes sur lesquelles se projettent les structures olfactives puissent aussi jouer ce rôle d'intégration. Ainsi, et cela nécessitera de nouvelles expériences, il est possible que *le* ***circuit cérébral de peur conditionnée proposé par Joseph LeDoux dans les modalités auditive et visuelle ne s'applique pas à l'olfaction***.

Une question cruciale se pose alors: *si le noyau latéral n'est pas le noyau amygdalien primordial dans l'apprentissage de peur conditionnée à l'odeur, le noyau cortical et le cortex périamygdalien le sont-ils*? Voyons si cela se peut. Pour cela, deux conditions doivent être au minimum remplis: 1) ces noyaux doivent recevoir des afférences olfactives ET nociceptives et 2) ils doivent avoir des projections sur le noyau central qui est la voie de sortie comportementale de l'amygdale.

Le bulbe olfactif se projette principalement sur trois structures amygdaliennes: le cortex périamygdalien, le noyau cortical antérieur et postérolatéral et l'aire de transition post-piriforme (Swanson et Petrovich, 1998; voir Figure 3.5). Parmi elles, les deux premières et dans une moindre mesure la troisième sont des structures cibles du cortex piriforme (McDonald, 1998). Elles sont également des structures cibles du cortex insulaire agranulaire, c'est-à-dire qu'elles sont la cible de la voie nociceptive (Swanson et Petrovich, 1998). Néanmoins, les données manquent concernant les projections directes du noyau ventropostérolatéral du thalamus, ou thalamus nociceptif sur les noyaux olfactifs de l'amygdale. La première condition est donc remplie pour ces structures.

Ensuite, le noyau cortical antérieur se projette soit directement soit via le noyau basal accessoire antérieur sur l'hypothalamus latéral. En revanche, le cortex périamygdalien et le

noyau cortical postérolatéral se projettent tous deux sur le noyau central, indirectement via le noyau basal accessoire postérieur pour le cortex périamygdalien, directement ou via le noyau amygdalien postérieur pour le noyau cortical postérolatéral (Swanson et Petrovich, 1998). La deuxième condition est donc également remplie.

Nous proposons donc un modèle de traitement de l'information olfactive par l'amygdale qui impliquerait fortement et principalement ces deux structures, le noyau cortical et le cortex périamygdalien. Dans ce cas, nous pouvons émettre l'hypothèse que la plasticité synaptique durable mise en évidence dans le noyau cortical de l'amygdale dans notre étude électrophysiologique, c'est-à-dire en absence d'odeur lors du test de rappel, pourrait représenter, au moins en partie, la trace mnésique de l'apprentissage olfactif. Cette donnée est en accord avec les données obtenues par Keller, Perrin, Meurisse, Ferreira et Lévy (2004) chez la brebis. Les auteurs ont étudié l'apprentissage de l'odeur de l'agneau par sa mère dans les heures qui suivent la mise-bas. Pour cela, ils ont inactivé de façon sélective différents noyaux amygdaliens par injection de lidocaïne: le noyau cortical, le noyau médian (projection amygdalienne principale du système olfactif accessoire) et le complexe basolatéral. Ils ont montré que l'inactivation des deux premiers mais pas du dernier empêche la formation de l'apprentissage de l'odeur de l'agneau par sa mère. Ces données montrent que le noyau cortical, structure peu décrite dans la littérature, peut être impliqué de façon critique dans les apprentissages olfactifs. L'hypothèse de l'importance primordiale du noyau cortical dans l'apprentissage de peur conditionnée à l'odeur est bien entendu spéculative et nécessitera de nouvelles expériences afin de la confirmer ou l'infirmer. Pour cela, des approches par inactivation sélective de ce noyau à différents moments de l'apprentissage (acquisition, consolidation, rappel…) seraient intéressantes.

Il ne faut néanmoins pas négliger le rôle du noyau latéral puisque malgré la faible quantité d'afférences olfactives à ce niveau, Rosenkranz et Grace (2002a) ont montré que sur l'animal anesthésié, il est possible de mettre en évidence une modulation de la réponse à l'odeur suite à son association avec des chocs électriques aux pattes. Par ailleurs, l'étude de cartographie métabolique effectuée dans cette thèse a montré que chez les animaux témoins, au cours du conditionnement, les noyaux latéral et basal étaient activés. Enfin, lors du test de rappel dans notre étude électrophysiologique, l'implication du complexe basolatéral a également été soulignée, sans précision du noyau précis. Là encore, des études d'inactivation sélective de ce noyau devraient permettre d'en connaître le rôle dans le conditionnement de peur à l'odeur et de le comparer à celui des noyaux corticaux.

6.2.3. Rôle du cortex piriforme

Lors de différents apprentissages olfactifs, le cortex piriforme postérieur semble être la partie importante du cortex piriforme dans le traitement mnésique d'une information olfactive (Haberly, 2001). Dans l'apprentissage de peur conditionnée à l'odeur, le manque de données de la littérature ne nous permet pas d'avoir une idée complètement satisfaisante de son rôle. En revanche, nos deux études ont permis de mettre en lumière l'implication de cette structure à différents moments de l'apprentissage. Nous avons tout d'abord mis en évidence une activation de la partie postérieure du cortex piriforme lors de la phase de conditionnement (méthode en 2-DG) qui pourrait refléter la mise en mémoire de l'odeur. Nous avons également montré une facilitation de la transmission synaptique dans le cortex piriforme postérieur lors de la présentation de l'odeur au cours du test de rappel (approche électrophysiologique). Cette facilitation ne reflète pas un traitement sensoriel du stimulus olfactif puisqu'on ne l'observe que chez les animaux conditionnés. Nous avons donc proposé que cette activation reflète le traitement mnésique du stimulus (Sevelinges, Gervais, Messaoudi, Granjon et Mouly, 2004). Ces résultats semblent indiquer que, comme cela est le cas dans d'autres apprentissages olfactifs (Litaudon, Mouly, Sullivan, Gervais, Cattarelli, 1997; Mouly, Fort, Benboutayab et Gervais, 2001; Mouly et Gervais, 2002), le cortex piriforme postérieur joue un rôle dans le traitement mnésique de l'information olfactive. Dans le modèle de LeDoux, la voie corticale permet le traitement fin du stimulus. Par analogie, on pourrait faire l'hypothèse que la voie de projection olfactive $BO \rightarrow CPp \rightarrow ACo$ fasse office de voie lente, par opposition à la voie rapide $BO \rightarrow ACo$. Pour tester cette hypothèse, une expérience intéressante consisterait à léser le cortex piriforme. S'il existe bien une voie rapide et une voie lente, alors cette lésion ne devrait pas empêcher l'apprentissage de peur conditionnée à l'odeur. En revanche, on pourrait s'attendre à voir une généralisation importante à d'autres odeurs.

6.2.4. Bilan de l'apprentissage de peur conditionnée à l'odeur chez l'adulte

Dans le modèle que nous proposons (Figure 6.1), l'information olfactive issue du bulbe olfactif serait acheminée directement au noyau cortical et au cortex périamygdalien où elle serait associée à l'information nociceptive. La projection de ces deux noyaux vers le noyau central permettrait l'élaboration de la réponse comportementale de peur conditionnée. Cette voie pourrait constituer l'équivalent de la voie rapide du modèle LeDoux.

Par ailleurs, l'information issue du bulbe olfactif atteint le cortex piriforme pour être ensuite relayée au noyau cortical et au cortex périamygdalien. Cette voie pourrait constituer l'équivalent de la voie lente du modèle LeDoux.

Bien sur, tout ceci n'est que spéculatif et nécessiterait des expériences supplémentaires pour infirmer ou confirmer les postulats de ce modèle.

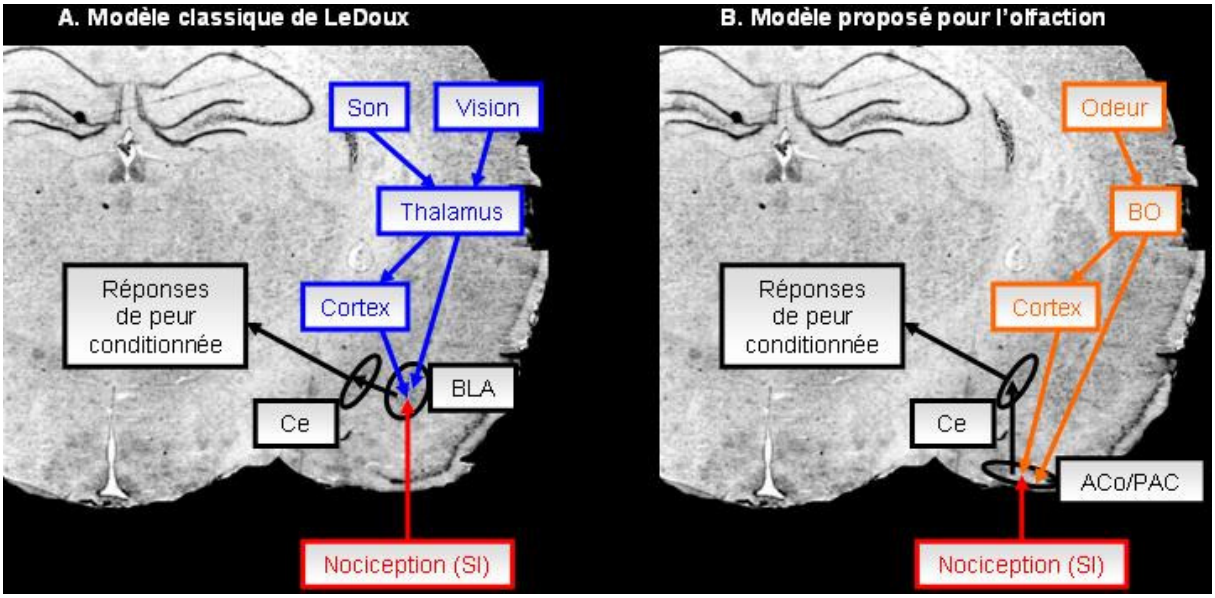


Figure 6.1 Parallèle entre le modèle *LeDoux* (A) et celui proposé pour l'olfaction (B)
(voir le texte pour les abréviations)

6.3. Influences des expériences précoces sur le conditionnement de peur à l'âge adulte

6.3.1. Rappel des résultats

La majorité des études s'intéressant à la question de l'influence des expériences précoces a été faite sur les conséquences de stress et manipulations périnataux, que ce soit dans les derniers jours de gestation de la mère ou dans les premiers jours de vie de l'animal. Le but de cette étude a été quant à lui de mesurer les effets à l'âge adulte d'un apprentissage associatif précoce: l'apprentissage d'une préférence paradoxale résultant de l'association entre une odeur (menthe) et des chocs électriques.

Nous avons tout d'abord montré que l'apprentissage néonatal de préférence paradoxale perturbe l'apprentissage de peur conditionnée adulte uniquement lorsque le stimulus conditionnel est le même que celui appris en période néonatal. A l'âge adulte, lors du test de rétention, les animaux montrent une diminution significative mais pas une abolition de la réponse de peur conditionnée. Cette diminution est observée lorsque l'odeur de menthe est utilisée comme stimulus conditionnel ou comme indice contextuel lors du conditionnement à une odeur témoin, le citral (odeur de citron).

En parallèle, nous avons montré une absence d'activation des structures normalement impliquées dans ce type d'apprentissage, c'est-à-dire les noyaux latéral, basal et cortical de l'amygdale ainsi que le cortex piriforme postérieur. Ces résultats montrent un résultat tout à fait intéressant: l'apprentissage résiduel observé au niveau comportemental repose sur un réseau de structures *indépendant de l'amygdale*, structure pourtant clé dans les conditionnements de peur. La lésion du complexe basolatéral a déjà été décrite comme pouvant être sans effet dans l'apprentissage de peur conditionnée au contexte, mais uniquement dans certaines conditions bien particulières. Ainsi, Maren (1998) a montré que des rats avec le complexe basolatéral lésé qui reçoivent un ou vingt-cinq chocs dans une cage montrent des déficits d'apprentissage, comme cela est classiquement décrit. En revanche, lorsqu'ils reçoivent cinquante ou soixante-quinze chocs, c'est-à-dire dans le cas de surapprentissages, ils sont capables d'acquérir une peur conditionnée normale. Ces données

montrent que des voies alternatives d'apprentissage indépendantes de l'amygdale existent. Quel peut être ce réseau alternatif?

6.3.2. Le réseau impliqué dans l'apprentissage résiduel

6.3.2.1. Maintien du circuit néonatal de préférence paradoxale?

La première proposition est que le circuit de préférence paradoxale, c'est à dire la voie locus coeruleus/bulbe olfactif/cortex piriforme antérieur mise en évidence par Moriceau, Wilson, Levine et Sullivan (2006), persiste tout au long de la vie de l'animal et influence l'acquisition du conditionnement à l'âge adulte. Il pourrait donc y avoir un *conflit* entre la valence positive acquise par apprentissage en bas âge et la valence négative que tend à donner à l'odeur son association avec des chocs électrique à l'âge adulte. La préférence acquise au cours de la période sensible entraîne une plasticité dans le bulbe olfactif (pour revue, voir Moriceau et Sullivan, 2005; Sullivan, 2001, 2003, 2005). On peut donc imaginer que la plasticité mise en place pour cette odeur et pas pour une autre joue au moment du conditionnement. Ainsi, lorsque l'odeur de menthe est codée dans le bulbe olfactif lors du conditionnement adulte, l'information pourrait déjà être *précâblée* vers des circuits de préférence mis en place au cours de la période sensible et serait donc plus difficilement apte à activer l'amygdale et déclencher l'apprentissage de peur. Il en résulterait que seule cette odeur soit difficilement associée aux chocs électriques dans l'amygdale. Cependant, bien que nous n'ayons pas de données concernant le bulbe olfactif et le locus cœruleus chez l'adulte, nous n'avons pas observé d'activation spécifique du cortex piriforme antérieur, ce qui aurait laissé supposer le maintien du circuit néonatal de préférence. Nous ne pouvons donc pas, au vu des résultats de la cartographie en 2-déoxyglucose, considérer cette hypothèse comme étant la bonne.

6.3.2.2. Existence d'une voie alternative via le BNST?

Dans notre étude, une des voies envisageables pour permettre cet apprentissage atténué pourrait être le BNST (bien que faisant partie de l'amygdale, par la suite et par commodité, le terme amygdale sera réservé aux noyaux amygdaliens normalement impliqués dans l'apprentissage de peur conditionnée à l'odeur et ne concernera pas le BNST). Nous avons émis cette hypothèse suite aux travaux de Poulos et Fanselow (2005). Dans un protocole de surapprentissage du contexte, ces auteurs ont reproduit en partie les résultats obtenus par Maren (1998) et ont montré que la lésion du complexe basolatéral de l'amygdale perturbait peu l'apprentissage de peur conditionnée. La lésion du BNST le perturbait un peu plus et des lésions combinées BNST/complexe basolatéral étaient complètement délétères. Ainsi, dans certaines conditions particulières, ici dans un protocole de surapprentissage, l'acquisition de la peur conditionnée peut se faire sans l'implication du complexe basolatéral de l'amygdale mais aboutit à un apprentissage moins efficace. Cette dernière remarque ressemble fort aux résultats obtenus dans notre deuxième étude. Au cours du reconditionnement à l'âge adulte, l'apprentissage est possible mais atténué alors que les noyaux amygdaliens normalement impliqués (complexe basolatéral et noyau cortical) ne sont pas activés, pour des raisons qu'il reste à découvrir. Peut-on considérer le BNST comme une bonne structure candidate pour expliquer nos résultats?

Cette structure est généralement plutôt décrite comme impliquée dans l'expression de comportements inconditionnés, que ce soit des peurs inconditionnées ou des réponse à des phéromones. Elle est donc l'une des voies de sortie privilégiées du système olfactif accessoire (Swanson et Petrovich, 1998). Dans le cas de peur inconditionnée au triméthylthiazoline, un composé présent dans les fèces de renard, Fendt, Endres et Apfelbach (2003) ont montré que l'inactivation au muscimol du BNST et pas du complexe basolatéral perturbait la réponse d'immobilité. Dans la modalité visuelle, Walker et Davis (1997) ont montré que le BNST est l'une des voies de sorties privilégiées dans les peurs inconditionnées tandis que le noyau central est la voie privilégiée pour les peurs conditionnées. Dans le cas des phéromones, c'est-à-dire de molécules volatiles sexuelles, leur détection entraîne une préférence inconditionnée et active le bulbe olfactif accessoire, le noyau médian et le BNST. Toujours dans cette étude, si des odeurs neutres sont associées à une femelle en ovulation (apprentissage associatif), les rats vont apprendre une préférence conditionnée qui activera des structures différentes, c'est-à-dire le cortex piriforme et le complexe basolatéral de l'amygdale (Kippin, Cain et Pfaus,

2003). A priori, le BNST semble donc être la voie plutôt impliquée dans les réponses inconditionnées. Cependant, "*le conditionnement de la peur donne au son la capacité d'activer le système neuronal commandant les réponses de l'animal mis en présence d'un prédateur ou d'un autre danger naturel*" (LeDoux, 1996, p. 140). Ainsi, une hypothèse est que le traitement de l'apprentissage de peur conditionnée à l'odeur puisse, dans certains cas, utiliser les voies de traitements des peurs inconditionnées.

Pour être une bonne structure candidate, le BNST doit vérifier deux conditions: 1) il doit être un lieu de convergence entre les informations olfactives et nociceptives et 2) doit envoyer des projections vers les structures effectrices de la réponse de peur conditionnée. Pour la première condition, il existe des projections directes du bulbe olfactif principal sur cette structure (Davis, Macrides, Youngs, Schneider et Rosene, 1978; Scalia et Winans, 1975). Par ailleurs, dans une étude de perception des phéromones sexuelles de femelles, Swann, Rahaman, Bijak et Fiber (2001) ont montré que les deux bulbes olfactifs peuvent détecter les phéromones mais que la voie accessoire joue un plus grand rôle dans les comportements d'accouplement. Cependant, la destruction des neurorécepteurs du bulbe olfactif principal empêche l'activation normale de nombreuses structures, dont le cortex piriforme, le noyau cortical antérieur et le noyau médian, le bulbe olfactif accessoire et le BNST en réponse à des phéromones sexuelles. Ces arguments plaident en faveur de circuits fonctionnels entre le bulbe olfactif principal et le BNST. Par ailleurs, le cortex insulaire agranulaire postérieur, connu pour être impliqué dans le traitement des stimuli nociceptifs, envoie des axones directement mais pas de façon massive sur le BNST (McDonald, Shammah-Lagnado, Shi et Davis, 1999; Yasui, Breder, Saper et Cechetto, 1991). Ainsi, le BNST est un site de convergence entre l'information olfactive et nociceptive. Concernant la deuxième condition, le BNST est fortement relié aux structures qui contrôlent les réactions végétatives et neuroendocrines observées dans la réponse de peur conditionnée, comme le noyau central, le noyau parabrachial, le noyau du tractus solitaire, la substance grise périaqueducale, l'aire tegmentale ventrale et les noyaux périventriculaire, paraventriculaire, dorsolatéral et dorsomédian de l'hypothalamus (pour revue, voir Forray et Gysling, 2004)

De l'ensemble de ces données, on peut donc envisager que la voie du BNST prenne le relais de l'amygdale lorsque celle-ci ne s'active pas lors du conditionnement. Cette voie permettrait à l'animal d'apprendre une peur conditionnée à l'odeur, mais serait moins efficace puisque sous-tendant une fonction qui ne lui est initialement pas dévolue. En temps normal, le BNST serait plutôt impliqué dans les phénomènes d'anxiété et pas de peur, c'est-à-dire dans des situations d'appréhensions qui ne sont pas liées à l'environnement immédiat (Walker,

Toufexis et Davis, 2003), contrairement à notre protocole qui est basé sur la peur à un stimulus conditionnel. Cette proposition de voie alternative moins efficace recoupe les résultas d'une étude récente menée par Wiltgen, Sanders, Anagnostaras, Sage et Fanselow (2006). Les auteurs ont montré que dans un apprentissage de peur au contexte, les animaux avec l'hippocampe lésé sont capables d'apprendre le contexte mais de façon moins efficace. Les auteurs ont donc proposé qu'il existe au moins deux voies d'apprentissage du contexte dans le cerveau: quand l'hippocampe est intact, cette voie est privilégiée et inhiberait la ou les autres voies cérébrales. Quand l'hippocampe est lésé, l'inhibition serait levée et permettrait à d'autres voies, moins efficaces de prendre le relais. Dans le paradigme de peur conditionnée à l'odeur, l'amygdale s'active normalement et pourrait inhiber les voies alternatives d'acquisition de l'apprentissage, celle du BNST notamment (voir Figure 6.2 page suivante).En revanche, lorsque l'amygdale n'est pas activée (comme c'est le cas pour les animaux ayant eu un apprentissage néonatal), la voie alternative par le BNST pourrait être mise en jeu. Si cette hypothèse se vérifie, on devrait observer une augmentation du marquage au 2-DG dans le BNST chez ces animaux, par rapport aux animaux témoins n'ayant pas appris de préférence paradoxale.

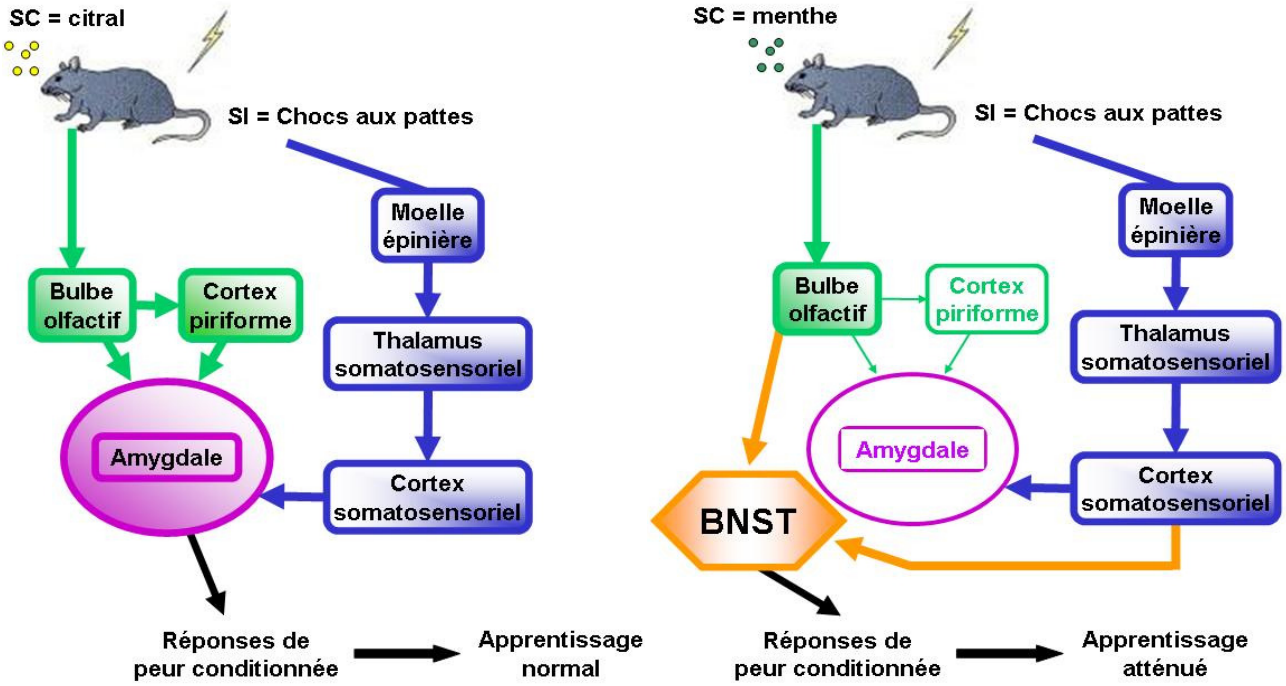


Figure 6.2 Modèle théorique des voies d'apprentissage du conditionnement de peur à l'odeur: voies dépendantes de l'amygdale pour une odeur témoin (citral, à gauche) et indépendantes pour une odeur apprise en bas âge (menthe, à droite)

Les structures pleines avec un cadre épais sont actives, celles avec un cadre fin et sans couleur à l'intérieur ne le sont pas.
L'épaisseur des flèches correspond à l'intensité de l'activation d'une structure.
Voir le texte pour les abréviations.

6.3.2.3. Inhibition des voies d'apprentissage classiques au cours de l'apprentissage ?

Une question demeure: pourquoi les noyaux amygdaliens normalement impliqués dans l'apprentissage de peur conditionnée à l'odeur ne s'activent-ils pas au cours de l'acquisition de l'apprentissage? La première hypothèse des voies maintenues de préférence paradoxale qui empêchent cette activation n'étant pas, au vu de nos résultats, satisfaisante, une deuxième hypothèse se pose, celle de l'inhibition de l'amygdale par une structure annexe. Dans ce cas, un candidat sérieux serait le cortex frontal, plus particulièrement le cortex préfrontal médian. Cette hypothèse est séduisante car l'acquisition et l'extinction de l'apprentissage de peur conditionnée reposent sur un équilibre entre l'activité de l'amygdale et celle de cette structure. L'activation du cortex préfrontal médian est notamment connue pour être impliquée dans les phases d'extinction de l'apprentissage grâce à son action inhibitrice sur le complexe

basolatéral de l'amygdale (pour revue, voir Garcia, 2002; Quirk, Garcia et Gonzalez-Lima, 2006). Cette inhibition permettrait d'éteindre des comportements émotionnels devenus inappropriés lorsque le stimulus conditionnel a perdu de sa valeur prédictive de l'arrivée d'évènements aversifs (Rosenkranz, Moore et Grace, 2003). L'inhibition du complexe basolatéral par cette structure (pour revue, voir Grace et Rosenkranz, 2002) en fait une bonne structure candidate. Une hypothèse intéressante est celle proposée par Baeg et collaborateurs (2001) qui stipule que lors du conditionnement, un stimulus conditionnel sonore active deux voies: la première active le complexe basolatéral qui va alors inhiber le cortex préfrontal médian. La deuxième voie active des interneurones inhibiteurs du cortex préfrontal médian qui vont alors inhiber les neurones de ce cortex impliqués dans les interactions avec l'amygdale. Ainsi, au cours du conditionnement, le cortex préfrontal médian va faiblement inhiber le complexe basolatéral. Cette double voie activation/desinhibition de l'amygdale permettrait la mise en place de l'association son-chocs dans l'amygdale. Dans le cas d'un apprentissage odeur-chocs, il est donc possible que la préférence paradoxale pour la menthe acquise pendant la période sensible fasse que lorsque la menthe est associée à des chocs électriques, elle soit moins capable d'activer l'amygdale d'une part et les interneurones inhibiteurs du cortex préfrontal médian d'autre part (voir Figure 6.3). Le résultat serait une faible activation par le SC et une forte inhibition de l'amygdale par le cortex préfrontal en réponse au conditionnement de peur à la menthe. On peut aussi supposer une moindre activation du cortex piriforme postérieur. Dans le cas du conditionnement au citral, celui-ci doit pouvoir activer normalement l'amygdale et inhiber correctement le cortex préfrontal médian puisque les animaux ne montrent pas de déficits d'apprentissage. Cependant, lorsque la menthe est présente comme indice contextuel, elle pourrait quand même désinhiber le cortex préfrontal médian et perturber le traitement de l'odeur de citral dans le circuit impliqué. Si cette hypothèse est vraie, on devrait observer une activation plus importante du cortex préfrontal lors du conditionnement adulte chez les animaux conditionnés en bas âge par rapport aux animaux témoins. Ainsi, il serait très certainement très intéressant d'étudier finement ce cortex lors de la phase d'acquisition de l'apprentissage, à l'aide de la méthode 2-DG ou de méthodes d'enregistrements électrophysiologiques.

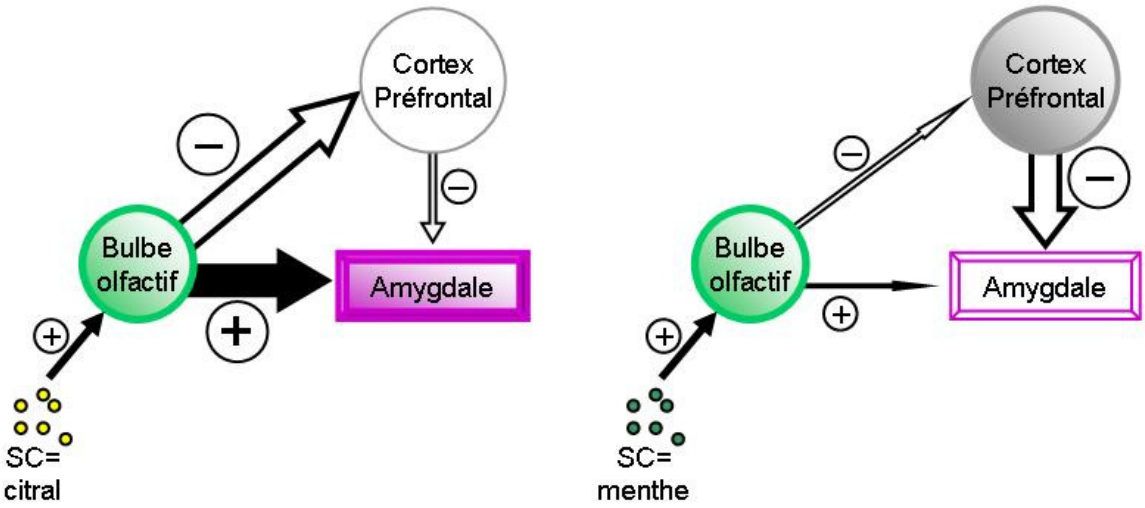


Figure 6.3 Modèle théorique rendant compte de l'activation de l'amygdale lors du conditionnement de peur au citral (à gauche) ou à la menthe (à droite)

Les flèches noires représentent des activations, les flèches blanches des inhibitions.
L'épaisseur des flèches ainsi que la taille des symboles + et - indique le niveau d'activation ou d'inhibition en provenance d'une structures.
Les structures pleines avec un trait épais sont activées, celles en blanc avec un trait fin sont inhibées et/ou faiblement activées.

6.4. Quelques perspectives

Nous voilà maintenant arrivés à la fin de ce voyage scientifique (et initiatique pour moi) que vous avez bien voulu faire. Si la suite me le permet, nous aurons certainement de longs moments pour discuter des résultats que vous acceptâtes de juger et des hypothèses proposées.

Néanmoins, avant de conclure définitivement cette thèse, page importante de ma vie, finissons le travail correctement. Quelle suite donner à ces données, ces idées?

Tout d'abord, en restant dans le cadre des apprentissages de peur conditionnée, de nombreuses questions ont été posées et qui n'ont toujours pas de réponses. Premièrement, dans le cas d'apprentissage de peur conditionnée à l'odeur à l'âge adulte, quels sont les noyaux amygdaliens qui permettent son apprentissage? Quelles sont les contributions d'autres noyaux que le complexe basolatéral, cortex périamygdalien et noyau cortical en tête? Le noyau latéral joue-t-il le même rôle central qu'il a pour l'apprentissage de peur conditionnée aux sons? Pour répondre à tout ça, on peut, par exemple, envisager des approches par inactivation temporaires de ces différentes structures.

Ensuite, dans le cas des effets à long terme des apprentissages néonataux sur l'apprentissage adulte, de nombreuses hypothèses ont été avancées. Quelles sont les raisons expliquant que les noyaux amygdaliens ne s'activent pas? Comment le maintien de la préférence à l'âge adulte peut-elle perturber l'acquisition normale de peur conditionnée? Le cortex frontal et le BNST jouent-il un rôle dans l'apprentissage atténué? Et si oui, quels en sont les mécanismes? Bref, un grand nombre de questions qui mériteraient que l'on y apporte des réponses.

Par ailleurs, une autre question intéressante serait de savoir si, comme pour l'apprentissage de peur conditionnée au citral, la présence de menthe perturberait l'apprentissage d'une peur conditionnée dans une modalité non olfactive, le son notamment? On peut supposer, au vu de la spécificité des déficits d'apprentissage olfactifs, que des animaux conditionnés en période sensible ne montreront aucun déficit d'apprentissage de peur conditionnée à un son. En revanche, qu'en serait-il si la menthe se trouvait comme indice contextuel lors du conditionnement? Sachant que l'audition utilise des voies de projection différentes de celles de l'olfaction, cet apprentissage serait-il également perturbé et si oui, par quels mécanismes?

On voit donc que le nombre d'expériences potentielles à faire pour répondre à l'ensemble de ces questions est colossal. Un vaste chantier scientifique sur l'animal en perspective…

Et l'homme? En effet, les observations faites chez les ratons devenus adultes sont-elles observables chez l'homme? En effet, bien que les ratons sentent la douleur des chocs électriques, ils manifestent néanmoins une préférence paradoxale. Cette préférence est capable, comme nous l'avons vu, de perturber les apprentissages émotionnels à l'âge adulte. Chez l'homme, les maltraitances infantiles sont connues pour avoir des conséquences à long terme, à la fois sur le développement de nombreuses structures cérébrales (pour revue, voir Teicher et collaborateurs, 2003) et sur les comportements de l'enfant (pour revue, voir Schore, 2001). Si le conditionnement associatif précoce peut être un modèle d'attachement, alors le conditionnement odeur-chocs au cours de la période sensible pourrait être un modèle d'attachements dans le cas de mauvais traitements (pour revue, voir Sullivan, 2003). Il pourrait donc être possible de trouver des pistes afin de comprendre pourquoi les enfants maltraités montrent un attachement très fort envers leurs parents maltraitants (Bowlby, 1965) et comment l'apprentissage de ces attachements peut être conservé en mémoire sous forme latente et s'exprimer à l'âge adulte, notamment par le développement de troubles

psychologiques (Teicher et collaborateurs, 2003). Le chantier scientifique sur l'humain ne semble donc pas moins grand… ni moins intéressant.

Cette fois ci, j'y suis. Les derniers mots de cette thèse, les dernières gouttes de sueur. L'avoir écrite m'a fait voir différemment mes travaux, m'a poussé à des pistes de réflexion que j'avais à peine devinées, à peine aperçues. J'y ai donné le meilleur, j'espère vous avoir convaincu. Si je ne l'ai pas fait, que l'on en discute. Ensemble.

Voilà, il est temps de finir. L'avenir m'attend.

Bibliographie

- A -

Alvarez P, Squire LR (1994) Memory consolidation and the medial temporal lobe: a simple network model. Proc Natl Acad Sci U S A 91:7041-7045.

Alvarez P, Zola-Morgan S, Squire LR (1994) The animal model of human amnesia: long-term memory impaired and short-term memory intact. Proc Natl Acad Sci U S A 91:5637-5641.

Amorapanth P, LeDoux JE, Nader K (2000) Different lateral amygdala outputs mediate reactions and actions elicited by a fear-arousing stimulus. Nat Neurosci 3:74-79.

Anagnostaras SG, Maren S, Fanselow MS (1999) Temporally graded retrograde amnesia of contextual fear after hippocampal damage in rats: within-subjects examination. J Neurosci 19:1106-1114.

Anagnostaras SG, Gale GD, Fanselow MS (2001) Hippocampus and contextual fear conditioning: recent controversies and advances. Hippocampus 11:8-17.

Anisman H, Zaharia MD, Meaney MJ, Merali Z (1998) Do early-life events permanently alter behavioral and hormonal responses to stressors? Int J Dev Neurosci 16:149-164.

Arancio O, Lev-Ram V, Tsien RY, Kandel ER, Hawkins RD (1996) Nitric oxide acts as a retrograde messenger during long-term potentiation in cultured hippocampal neurons. J Physiol Paris 90:321-322.

Arancio O, Kiebler M, Lee CJ, Lev-Ram V, Tsien RY, Kandel ER, Hawkins RD (1996) Nitric oxide acts directly in the presynaptic neuron to produce long-term potentiation in cultured hippocampal neurons. Cell 87:1025-1035.

Armario A, Restrepo C, Castellanos JM, Balasch J (1985) Dissociation between adrenocorticotropin and corticosterone responses to restraint after previous chronic exposure to stress. Life Sci 36:2085-2092.

Atkins CM, Selcher JC, Petraitis JJ, Trzaskos JM, Sweatt JD (1998) The MAPK cascade is required for mammalian associative learning. Nat Neurosci 1:602-609.

- B -

Baeg EH, Kim YB, Jang J, Kim HT, Mook-Jung I, Jung MW (2001) Fast spiking and regular spiking neural correlates of fear conditioning in the medial prefrontal cortex of the rat. Cereb Cortex 11:441-451.

Baldi E, Lorenzini CA, Bucherelli C (2004) Footshock intensity and generalization in contextual and auditory-cued fear conditioning in the rat. Neurobiol Learn Mem 81:162-166.

Barbelivien A, Herbeaux K, Oberling P, Kelche C, Galani R, Majchrzak M (2006) Environmental enrichment increases responding to contextual cues but decreases overall conditioned fear in the rat. Behav Brain Res 169:231-238.

Bard P (1928) A diencephalic mechanism for the expression of rage with special reference to the sympathetic nervous system. American Journal of Physiology, 84, 490-515.

Bashir ZI, Bortolotto ZA, Davies CH, Berretta N, Irving AJ, Seal AJ, Henley JM, Jane DE, Watkins JC, Collingridge GL (1993) Induction of PLT in the hippocampus needs synaptic activation of glutamate metabotropic receptors. Nature 363:347-350.

Bauer EP, Schafe GE, LeDoux JE (2002) NMDA receptors and L-type voltage-gated calcium channels contribute to long-term potentiation and different components of fear memory formation in the lateral amygdala. J Neurosci 22:5239-5249.

Baxter MG, Murray EA (2002) The amygdala and reward. Nat Rev Neurosci 3:563-573.

Bechara A, Damasio H, Damasio AR (2003) Role of the amygdala in decision-making. Ann N Y Acad Sci 985:356-369.

Bechara A, Damasio H, Damasio AR, Lee GP (1999) Different contributions of the human amygdala and ventromedial prefrontal cortex to decision-making. J Neurosci 19:5473-5481.

Bechara A, Damasio H, Tranel D, Damasio AR (1997) Deciding advantageously before knowing the advantageous strategy. Science 275:1293-1295.

Berdel B, Morys J, Maciejewska B (1997) Neuronal changes in the basolateral complex during development of the amygdala of the rat. Int J Dev Neurosci 15:755-765.

Bergson H (1888) Essai sur les données immédiates de la conscience. Paris: PUF, coll. "Bibliothèque de philosophie contemporaine", 1970.

Bernard JF, Besson JM (1990) The spino(trigemino)pontoamygdaloid pathway: electrophysiological evidence for an involvement in pain processes. J Neurophysiol 63:473-490.

Bernard JF, Bester H, Besson JM (1996) Involvement of the spino-parabrachio -amygdaloid and -hypothalamic pathways in the autonomic and affective emotional aspects of pain. Prog Brain Res 107:243-255.

Blair HT, Schafe GE, Bauer EP, Rodrigues SM, LeDoux JE (2001) Synaptic plasticity in the lateral amygdala: a cellular hypothesis of fear conditioning. Learn Mem 8:229-242.

Blanchard DC, Blanchard RJ (1972) Innate and conditioned reactions to threat in rats with amygdaloid lesions. J Comp Physiol Psychol 81:281-290.

Blanchard RJ, Blanchard DC (1969) Crouching as an index of fear. J Comp Physiol Psychol 67:370-375.

Blanchard RJ, Blanchard DC, Agullana R, Weiss SM (1991) Twenty-two kHz alarm cries to presentation of a predator, by laboratory rats living in visible burrow systems. Physiol Behav 50:967-972.

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

Bolles RC, Woods PJ (1965) The ontogeny of behavior in the albino rat. Anim Behav, 12:427-41.

Bolshakov VY, Siegelbaum SA (1995) Regulation of hippocampal transmitter release during development and long-term potentiation. Science 269:1730-1734.

Bontempi B, Laurent-Demir C, Destrade C, Jaffard R (1999) Time-dependent reorganization of brain circuitry underlying long-term memory storage. Nature 400:671-675.

Bordi F, LeDoux JE (1994a) Response properties of single units in areas of rat auditory thalamus that project to the amygdala. I. Acoustic discharge patterns and frequency receptive fields. Exp Brain Res 98:261-274.

Bordi F, LeDoux JE (1994b) Response properties of single units in areas of rat auditory thalamus that project to the amygdala. II. Cells receiving convergent auditory and somatosensory inputs and cells antidromically activated by amygdala stimulation. Exp Brain Res 98:275-286.

Bordner KA, Spear NE (2006) Olfactory learning in the one-day old rat: reinforcing effects of isoproterenol. Neurobiol Learn Mem 86:19-27.

Bouslama M, Durand E, Chauviere L, Van den Bergh O, Gallego J (2005) Olfactory classical conditioning in newborn mice. Behav Brain Res 161:102-106.

Bowlby J (1965) Attachment. New York: Basic Books.

Bowlby J (1969) Attachment. Vol. 1 of Attachment and loss. London: Hogarth Press. New York: Basic Books; Harmondsworth: Penguin (1971).

Brasted PJ, Dobrossy MD, Robbins TW, Dunnett SB (1998) Striatal lesions produce distinctive impairments in reaction time performance in two different operant chambers. Brain Res Bull 46:487-493.

Bucci DJ, Phillips RG, Burwell RD (2000) Contributions of postrhinal and perirhinal cortex to contextual information processing. Behav Neurosci 114:882-894.

Burdach KF (1819–1822) Vom Baue und Leben des Gehirns, Leipzig.

Burstein R, Potrebic S (1993) Retrograde labeling of neurons in the spinal cord that project directly to the amygdala or the orbital cortex in the rat. J Comp Neurol 335:469-485.

Burwell RD, Amaral DG (1998) Cortical afferents of the perirhinal, postrhinal, and entorhinal cortices of the rat. J Comp Neurol 398:179-205.

Burwell RD, Witter MP, Amaral DG (1995) Perirhinal and postrhinal cortices of the rat: a review or the neuroanatomical literature and comparison with findings from the monkey brain. Hippocampus, 5:390–408.

- C -

Cahill L (2000) Neurobiological mechanisms of emotionally influenced, long-term memory. Prog Brain Res 126:29-37.

Cahill L, McGaugh JL (1990) Amygdaloid complex lesions differentially affect retention of tasks using appetitive and aversive reinforcement. Behav Neurosci 104:532-543.

Cahill L, McGaugh JL (1998) Mechanisms of emotional arousal and lasting declarative memory. Trends Neurosci 21:294-299.

Cahill L, Weinberger NM, Roozendaal B, McGaugh JL (1999) Is the amygdala a locus of "conditioned fear"? Some questions and caveats. Neuron 23:227-228.

Cain CK, Blouin AM, Barad M (2002) L-type voltage-gated calcium channels are required for extinction, but not for acquisition or expression, of conditional fear in mice. J Neurosci 22:9113-9121.

Cain CK, Godsil BP, Jami S, Barad M (2005) The L-type calcium channel blocker nifedipine impairs extinction, but not reduced contingency effects, in mice. Learn Mem 12:277-284.

Cain DP, Bindra D (1972) Responses of amygdala single units to odors in the rat. Exp Neurol 35:98-110.

Caldji C, Diorio J, Meaney MJ (2000) Variations in maternal care in infancy regulate the development of stress reactivity. Biol Psychiatry 48:1164-1174.

Camp LL, Rudy JW (1988) Changes in the categorization of appetitive and aversive events during postnatal development of the rat. Dev Psychobiol 21:25-42.

Campeau S, Davis M (1995a) Involvement of the central nucleus and basolateral complex of the amygdala in fear conditioning measured with fear-potentiated startle in rats trained concurrently with auditory and visual conditioned stimuli. J Neurosci 15:2301-2311.

Campeau S, Davis M (1995b) Involvement of subcortical and cortical afferents to the lateral nucleus of the amygdala in fear conditioning measured with fear-potentiated startle in rats trained concurrently with auditory and visual conditioned stimuli. J Neurosci 15:2312-2327.

Cannon WB (1927) The James-Lange theory of emotions. A critical examination and an alternative theory. American Journal of Psychology, 39:106-124

Cannon WB (1929) Bodily changes in pain, hunger, fear and rage, vol. 2. New York: Appleton.

Canteras NS, Swanson LW (1992) Projections of the ventral subiculum to the amygdala, septum, and hypothalamus: a PHAL anterograde tract-tracing study in the rat. J Comp Neurol 324:180-194.

Chabaud P, Ravel N, Wilson DA, Gervais R (1999) Functional coupling in rat central olfactory pathways: a coherence analysis. Neurosci Lett 276:17-20.

Chabaud P, Ravel N, Wilson DA, Mouly AM, Vigouroux M, Farget V, Gervais R (2000) Exposure to behaviourally relevant odour reveals differential characteristics in rat central olfactory pathways as studied through oscillatory activities. Chem Senses 25:561-573.

Chapman PF, Kairiss EW, Keenan CL, Brown TH (1990) Long-term synaptic potentiation in the amygdala. Synapse 6:271-278.

Chapouthier G (1990) Au bon vouloir de l'homme, l'animal. Paris: Denoël.

Chapouthier G, Martin B (1992) ß-carbolines: from memory towards genetics. European bulletin of cognitive psychology, 12:423-458.

Chapouthier G, Venault P (2002) Anxiété et mémoire ; les arguments de la psychopharmacologie. In A. Channouf & G. Rouan (Eds.), Emotions et cognitions (pp. 259-72). Bruxelles: Be Boeck.

Cheslock SJ, Sanders SK, Spear NE (2004) Learning during the newborn's first meal: special resistance to retroactive interference. Dev Sci 7:581-598.

Cheslock SJ, Varlinskaya EI, Petrov ES, Spear NE (2000) Rapid and robust olfactory conditioning with milk before suckling experience: promotion of nipple attachment in the newborn rat. Behav Neurosci 114:484-495.

Chiang C, Aston-Jones G (1993) Response of locus coeruleus neurons to footshock stimulation is mediated by neurons in the rostral ventral medulla. Neuroscience 53:705-715.

Cho YH, Friedman E, Silva AJ (1999) Ibotenate lesions of the hippocampus impair spatial learning but not contextual fear conditioning in mice. Behav Brain Res 98:77-87.

Chu S, Downes JJ (2000a) Long live Proust: the odour-cued autobiographical memory bump. Cognition 75:B41-50.

Chu S, Downes JJ (2000b) Odour-evoked autobiographical memories: psychological investigations of proustian phenomena. Chem Senses 25:111-116.

Cipolotti L, Shallice T, Chan D, Fox N, Scahill R, Harrison G, Stevens J, Rudge P (2001) Long-term retrograde amnesia...the crucial role of the hippocampus. Neuropsychologia 39:151-172.

Claparede E (1995) Recognition and selfhood. Conscious Cogn 4:371-378.

Cleland TA, Linster C (2003) Central olfactory structures. In RL Doty (Ed.), Handbook of olfaction and gustation (pp. 165-180). New York: Marcel Dekker Inc.

Clugnet MC, LeDoux JE (1990) Synaptic plasticity in fear conditioning circuits: induction of PLT in the lateral nucleus of the amygdala by stimulation of the medial geniculate body. J Neurosci 10:2818-2824.

Cohen NJ, Squire LR (1980) Preserved learning and retention of pattern-analyzing skill in amnesia: dissociation of knowing how and knowing that. Science 210:207-210.

Corkin S (2002) What's new with the amnesic patient H.M.? Nat Rev Neurosci 3:153-160.

Corodimas KP, LeDoux JE (1995) Disruptive effects of posttraining perirhinal cortex lesions on conditioned fear: contributions of contextual cues. Behav Neurosci 109:613-619.

Cosnier J (1994) Psychologie des émotions et des sentiments. Paris: Retz-Nathan.

Cousens G, Otto T (1998) Both pre- and posttraining excitotoxic lesions of the basolateral amygdala abolish the expression of olfactory and contextual fear conditioning. Behav Neurosci 112:1092-1103.

Crain B, Cotman C, Taylor D, Lynch G (1973) A quantitative electron microscopic study of synaptogenesis in the dentate gyrus of the rat. Brain Res 63:195-204.

- D -

Damasio AR (1994) L'erreur de Descartes La raison des émotions. Paris: Odile Jacob Sciences, 1995.

Damasio AR (2003a) Feelings of emotion and the self. Ann N Y Acad Sci 1001:253-261.

Damasio AR (2003b) Spinoza avait raison Joie et tristesse, le cerveau des émotions. Paris: Odile Jacob Sciences, 2003.

Darwin C (1872) L'expression des émotions chez l'homme et les animaux. Paris: C. Reinwald, 2ème édition, 1890.

Davis BJ, Macrides F, Youngs WM, Schneider SP, Rosene DL (1978) Efferents and centrifugal afferents of the main and accessory olfactory bulbs in the hamster. Brain Res Bull 3:59-72.

Davis M (1997) Neurobiology of fear responses: the role of the amygdala. J Neuropsychiatry Clin Neurosci 9:382-402.

Davis M, Whalen PJ (2001) The amygdala: vigilance and emotion. Mol Psychiatry 6:13-34.

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

De Borchgrave R, Rawlins JN, Dickinson A, Balleine BW (2002) Effects of cytotoxic nucleus accumbens lesions on instrumental conditioning in rats. Exp Brain Res 144:50-68.

De Olmos J, Hardy H, Heimer L (1978) The afferent connections of the main and the accessory olfactory bulb formations in the rat: an experimental HRP-study. J Comp Neurol, 181:213-244.

Demers G, Griffin G, De Vroey G, Haywood JR, Zurlo J, Bedard M (2006) Animal research. Harmonization of animal care and use guidance. Science 312:700-701.

Descartes R (1637) Discours de la méthode. Paris: Flammarion, 2000.

Descartes R (1649) Le traité des passions. Paris: Flammarion, 1996.

Desmedt A, Garcia R, Jaffard R (1998) Differential modulation of changes in hippocampal-septal synaptic excitability by the amygdala as a function of either elemental or contextual fear conditioning in mice. J Neurosci 18:480-487.

Desmedt A, Garcia R, Jaffard R (1999) Vasopressin in the lateral septum promotes elemental conditioning to the detriment of contextual fear conditioning in mice. Eur J Neurosci 11:3913-3921.

Doty RL (1986) Odor-guided behavior in mammals. Experientia 42:257-271.

Downer JL de C (1961) Changes in visual agnostic functions and emotional behaviour following unilateral temporal pole damage in the ‘split-brain’ monkey. Nature, 191:50-51.

Doyere V, Schafe GE, Sigurdsson T, LeDoux JE (2003) Long-term potentiation in freely moving rats reveals asymmetries in thalamic and cortical inputs to the lateral amygdala. Eur J Neurosci 17:2703-2715.

Dusek JA, Eichenbaum H (1997) The hippocampus and memory for orderly stimulus relations. Proc Natl Acad Sci U S A 94:7109-7114.

- E -

Ebbinghaus H (1885) Über das Gedächtnis. Paris: PUF, coll. "Bibliothèque du collège international de philosophie", 1998.

Edeline JM (1999) Learning-induced physiological plasticity in the thalamo-cortical sensory systems: a critical evaluation of receptive field plasticity, map changes and their potential mechanisms. Prog Neurobiol 57:165-224.

Eichenbaum H (2000) A cortical-hippocampal system for declarative memory. Nat Rev Neurosci 1:41-50.

Eichenbaum H (2001) The hippocampus and declarative memory: cognitive mechanisms and neural codes. Behav Brain Res 127:199-207.

Engen T, Ross BM (1973) Long-term memory of odors with and without verbal descriptions. J Exp Psychol. 10:221-7.

- F -

Fanselow MS (1986) Conditioned fear-induced opiate analgesia: a competing motivational state theory of stress analgesia. Ann N Y Acad Sci 467:40-54.

Fanselow MS (1990) Factors governing one trial contextual conditioning. Animal Learning & Behavior, 18:264-270.

Fanselow MS, Kim JJ (1994) Acquisition of contextual Pavlovian fear conditioning is blocked by application of an NMDA receptor antagonist D,L-2-amino-5-phosphonovaleric acid to the basolateral amygdala. Behav Neurosci 108:210-212.

Fanselow MS, LeDoux JE (1999) Why we think plasticity underlying Pavlovian fear conditioning occurs in the basolateral amygdala. Neuron 23:229-232.

Farinelli M, Deschaux O, Hugues S, Thevenet A, Garcia R (2006) Hippocampal train stimulation modulates recall of fear extinction independently of prefrontal cortex synaptic plasticity and lesions. Learn Mem 13:329-334.

Fendt M (2001) Injections of the NMDA receptor antagonist aminophosphonopentanoic acid into the lateral nucleus of the amygdala block the expression of fear-potentiated startle and freezing. J Neurosci 21:4111-4115.

Fendt M, Endres T, Apfelbach R (2003) Temporary inactivation of the bed nucleus of the stria terminalis but not of the amygdala blocks freezing induced by trimethylthiazoline, a component of fox feces. J Neurosci 23:23-28.

Fendt M, Fanselow MS (1999) The neuroanatomical and neurochemical basis of conditioned fear. Neurosci Biobehav Rev 23:743-760.

Fendt M, Koch M, Schnitzler HU (1994) Amygdaloid noradrenaline is involved in the sensitization of the acoustic startle response in rats. Pharmacol Biochem Behav 48:307-314.

Fillion TJ, Blass EM (1986) Infantile experience with suckling odors determines adult sexual behavior in male rats. Science 231:729-731.

Fleming AS, O'Day DH, Kraemer GW (1999) Neurobiology of mother-infant interactions: experience and central nervous system plasticity across development and generations. Neurosci Biobehav Rev 23:673-685.

Forray MI, Gysling K (2004) Role of noradrenergic projections to the bed nucleus of the stria terminalis in the regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. Brain Res Brain Res Rev 47:145-160.

Fortin NJ, Agster KL, Eichenbaum HB (2002) Critical role of the hippocampus in memory for sequences of events. Nat Neurosci 5:458-462.

Francis DD, Meaney MJ (1999) Maternal care and the development of stress responses. Curr Opin Neurobiol 9:128-134.

Frankland PW, Cestari V, Filipkowski RK, McDonald RJ, Silva AJ (1998) The dorsal hippocampus is essential for context discrimination but not for contextual conditioning. Behav Neurosci 112:863-874.

Funk D, Amir S (2000) Enhanced fos expression within the primary olfactory and limbic pathways induced by an aversive conditioned odor stimulus. Neuroscience 98:403-406.

- G -

Gale GD, Anagnostaras SG, Godsil BP, Mitchell S, Nozawa T, Sage JR, Wiltgen B, Fanselow MS (2004) Role of the basolateral amygdala in the storage of fear memories across the adult lifetime of rats. J Neurosci 24:3810-3815.

Galef BGJ, Wigmore SW (1983) Transfert of information concerning distant foods: A laboratory investigation of the 'information-centre' hypothesis. Anim Behav, 31:748-58.

Galvez R, Mesches MH, McGaugh JL (1996) Norepinephrine release in the amygdala in response to footshock stimulation. Neurobiol Learn Mem 66:253-257.

Garcia R (2002) Stress, synaptic plasticity, and psychopathology. Rev Neurosci 13:195-208.

Garcia R, Chang CH, Maren S (2006) Electrolytic lesions of the medial prefrontal cortex do not interfere with long-term memory of extinction of conditioned fear. Learn Mem 13:14-17.

Garcia R, Vouimba RM, Baudry M, Thompson RF (1999) The amygdala modulates prefrontal cortex activity relative to conditioned fear. Nature 402:294-296.

Gemberling GA, Domjan M (1982) Selective associations in one-day-old rats: taste-toxicosis and texture-shock aversion learning. J Comp Physiol Psychol 96:105-113.

Gemberling GA, Domjan M, Amsel A (1980) Aversion learning in 5-day-old rats: taste-toxicosis and texture-shock associations. J Comp Physiol Psychol 94:734-745.

Gervais R, Holley A, Keverne B (1988) The importance of central noradrenergic influences on the olfactory bulb in the processing of learned olfactory cues. Chem. Senses 13: 3-12

Gold PE, Van Buskirk RB (1975) Facilitation of time-dependent memory processes with posttrial epinephrine injections. Behav Biol 13:145-153.

Goosens KA, Maren S (2001) Contextual and auditory fear conditioning are mediated by the lateral, basal, and central amygdaloid nuclei in rats. Learn Mem 8:148-155.

Goosens KA, Maren S (2002) Long-term potentiation as a substrate for memory: evidence from studies of amygdaloid plasticity and Pavlovian fear conditioning. Hippocampus 12:592-599.

Goosens KA, Holt W, Maren S (2000) A role for amygdaloid PKA and PKC in the acquisition of long-term conditional fear memories in rats. Behav Brain Res 114:145-152.

Goosens KA, Maren S (2003) Pretraining NMDA receptor blockade in the basolateral complex, but not the central nucleus, of the amygdala prevents savings of conditional fear. Behav Neurosci 117:738-750.

Goosens KA, Hobin JA, Maren S (2003) Auditory-evoked spike firing in the lateral amygdala and Pavlovian fear conditioning: mnemonic code or fear bias? Neuron 40:1013-1022.

Gottfried JA, Deichmann R, Winston JS, Dolan RJ (2002) Functional heterogeneity in human olfactory cortex: an event-related functional magnetic resonance imaging study. J Neurosci 22:10819-10828.

Grace AA, Rosenkranz JA (2002) Regulation of conditioned responses of basolateral amygdala neurons. Physiol Behav 77:489-493.

Green RJ, Stanton ME (1989) Differential ontogeny of working memory and reference memory in the rat. Behav Neurosci 103:98-105.

Gruest N, Richer P, Hars B (2004) Emergence of long-term memory for conditioned aversion in the rat fetus. Dev Psychobiol 44:189-198.

Gustafsson B, Wigstrom H (1988) Physiological mechanisms underlying long-term potentiation. Trends Neurosci 11:156-162.

- H -

Haberly LB (1973) Summed potentials evoked in opossum prepyriform cortex. J Neurophysiol 36:775-788.

Haberly LB (2001) Parallel-distributed processing in olfactory cortex: new insights from morphological and physiological analysis of neuronal circuitry. Chem Senses 26:551-576.

Hadj-Bouziane F, Meunier M, Boussaoud D (2003) Conditional visuo-motor learning in primates: a key role for the basal ganglia. J Physiol Paris 97:567-579.

Haist F, Bowden Gore J, Mao H (2001) Consolidation of human memory over decades revealed by functional magnetic resonance imaging. Nat Neurosci 4:1139-1145.

Harlow HF (1958) The nature of love. American Psychologist, 13:573-685.

Harlow HF, Harlow MK (1965) The affectional systems. In A. Schrier, H.F. Harlow & F. Stollnitz (eds.), Behavior of nonhuman primates. Vol. 2, New York: Academic Press.

Haroutunian V, Campbell BA (1979) Emergence of interoceptive and exteroceptive control of behavior in rats. Science 205:927-929.

Hebb DO (1949) The organization of behaviour. New York: Wiley.

Helfer ME, Kempe RS, Krugman RD (1997) The battered child. University of Chicago Press.

Helmstetter FJ (1992a) Stress-induced hypoalgesia and defensive freezing are attenuated by application of diazepam to the amygdala. Pharmacol Biochem Behav. 44:433-8.

Helmstetter FJ (1992b) The amygdala is essential for the expression of conditional hypoalgesia. Behav Neurosci 106:518-528.

Helmstetter FJ (1992c) Contribution of the amygdala to learning and performance of conditional fear. Physiol Behav 51:1271-1276.

Helmstetter FJ, Bellgowan PS (1994) Effects of muscimol applied to the basolateral amygdala on acquisition and expression of contextual fear conditioning in rats. Behav Neurosci 108:1005-1009.

Herry C, Garcia R (2002) Prefrontal cortex long-term potentiation, but not long-term depression, is associated with the maintenance of extinction of learned fear in mice. J Neurosci 22:577-583.

Herry C, Garcia R (2003) Behavioral and paired-pulse facilitation analyses of long-lasting depression at excitatory synapses in the medial prefrontal cortex in mice. Behav Brain Res 146:89-96.

Herry C, Vouimba RM, Garcia R (1999) Plasticity in the mediodorsal thalamo-prefrontal cortical transmission in behaving mice. J Neurophysiol 82:2827-2832.

Herz RS (1998) Are odors the best cues to memory? A cross-modal comparison of associative memory stimuli. Ann N Y Acad Sci 855:670-674.

Herz RS (2004) A naturalistic analysis of autobiographical memories triggered by olfactory visual and auditory stimuli. Chem Senses 29:217-224.

Herzog C, Otto T (1997) Odor-guided fear conditioning in rats: 2. Lesions of the anterior perirhinal cortex disrupt fear conditioned to the explicit conditioned stimulus but not to the training context. Behav Neurosci 111:1265-1272.

Herzog C, Otto T (1998) Contributions of anterior perirhinal cortex to olfactory and contextual fear conditioning. Neuroreport 9:1855-1859.

Hess EH (1962) Ethology: An approach to the complete analysis of behavior. In R. Brown, E. Galanter, E.H. Hess, & G. Mendler, Holt (Eds.), New directions in psychology. Rinehart & Winston: New York.

Hildebrand JG, Shepherd GM (1997) Mechanisms of olfactory discrimination: converging evidence for common principles across phyla. Annu Rev Neurosci 20:595-631.

Hitchcock J, Davis M (1986) Lesions of the amygdala, but not of the cerebellum or red nucleus, block conditioned fear as measured with the potentiated startle paradigm. Behav Neurosci 100:11-22.

Hofer MA (1981) The roots of human behavior. W.H. Freeman & Co: New York.

Hofer MA, Sullivan RM (2001) Toward a neurobiology of attachment. In C.A. Nelson and M. Luciana (Eds), Handbook of Developmental Cognitive Neuroscience (pp599–616). Cambridge: MIT Press.

Hoffmann H, Molina JC, Kucharski D, Spear NE (1987) Further examination of ontogenetic limitations on conditioned taste aversion. Dev Psychobiol 20:455-463.

Holland PC, Bouton ME (1999) Hippocampus and context in classical conditioning. Curr Opin Neurobiol 9:195-202.

Holland PC, Gallagher M (2004) Amygdala-frontal interactions and reward expectancy. Curr Opin Neurobiol 14:148-155.

Huang YY, Kandel ER (1998) Postsynaptic induction and PKA-dependent expression of PLT in the lateral amygdala. Neuron 21:169-178.

Huang YY, Martin KC, Kandel ER (2000) Both protein kinase A and mitogen-activated protein kinase are required in the amygdala for the macromolecular synthesis-dependent late phase of long-term potentiation. J Neurosci 20:6317-6325.

Huff NC, Frank M, Wright-Hardesty K, Sprunger D, Matus-Amat P, Higgins E, Rudy JW (2006) Amygdala regulation of immediate-early gene expression in the hippocampus induced by contextual fear conditioning. J Neurosci 26:1616-1623.

- I -

Ikeda K, Onaka T, Yamakado M, Nakai J, Ishikawa TO, Taketo MM, Kawakami K (2003) Degeneration of the amygdala/piriform cortex and enhanced fear/anxiety behaviors in sodium pump alpha2 subunit (Atp1a2)-deficient mice. J Neurosci 23:4667-4676.

Iwata J, LeDoux JE, Reis DJ (1986) Destruction of intrinsic neurons in the lateral hypothalamus disrupts the classical conditioning of autonomic but not behavioral emotional responses in the rat. Brain Res 368:161-166.

- J -

Jaffard R, Etchamendy N, Desmedt A, Krazem A, Cortes-Torrea C, Marighetto A (2000) [An animal model of human declarative (relational) memory and of its dysfunction]. Therapie 55:477-485.

James W (1884) What is an emotion? Mind, 9, 188-205.

James W (1890) Principles of psychology. New-York: Holt.

Jones SV, Heldt SA, Davis M, Ressler KJ (2005) Olfactory-mediated fear conditioning in mice: simultaneous measurements of fear-potentiated startle and freezing. Behav Neurosci 119:329-335.

- K -

Kapp BS, Frysinger RC, Gallagher M, Haselton JR (1979) Amygdala central nucleus lesions: effect on heart rate conditioning in the rabbit. Physiol Behav 23:1109-1117.

Karten YJ, Olariu A, Cameron HA (2005) Stress in early life inhibits neurogenesis in adulthood. Trends Neurosci 28:171-172.

Kay LM, Freeman WJ (1998) Bidirectional processing in the olfactory-limbic axis during olfactory behavior. Behav Neurosci 112:541-553.

Kehoe P, Blass EM (1986) Conditioned aversions and their memories in 5-day-old rats during suckling. J Exp Psychol Anim Behav Process 12:40-47.

Keller M, Perrin G, Meurisse M, Ferreira G, Levy F (2004) Cortical and medial amygdala are both involved in the formation of olfactory offspring memory in sheep. Eur J Neurosci 20:3433-3441.

Kessler RC, Borges G, Walters EE (1999) Prevalence of and risk factors for lifetime suicide attempts in the National Comorbidity Survey. Arch Gen Psychiatry 56:617-626.

Killcross S, Robbins TW, Everitt BJ (1997) Different types of fear-conditioned behaviour mediated by separate nuclei within amygdala. Nature 388:377-380.

Kilpatrick L, Cahill L (2003) Modulation of memory consolidation for olfactory learning by reversible inactivation of the basolateral amygdala. Behav Neurosci 117:184-188.

Kim JJ, Fanselow MS (1992) Modality-specific retrograde amnesia of fear. Science 256:675-677.

Kim JJ, Jung MW (2006) Neural circuits and mechanisms involved in Pavlovian fear conditioning: a critical review. Neurosci Biobehav Rev 30:188-202.

Kim M, Davis M (1993) Electrolytic lesions of the amygdala block acquisition and expression of fear-potentiated startle even with extensive training but do not prevent reacquisition. Behav Neurosci 107:580-595.

Kim JJ, Rison RA, Fanselow MS (1993) Effects of amygdala, hippocampus, and periaqueductal gray lesions on short- and long-term contextual fear. Behav Neurosci 107:1093-1098.

Kippin TE, Cain SW, Pfaus JG (2003) Estrous odors and sexually conditioned neutral odors activate separate neural pathways in the male rat. Neuroscience 117:971-979.

Kleinginna PR Jr, Kleinginna AM (1981) A categorized list of emotion definitions with suggestions for a consensual definition. Motivation and Emotion, 5, 345-379.

Klüver H, Bucy PC (1939) Preliminary analysis of functions of the temporal lobes in monkeys. Arch. Neurol. Psychiat., 42, 979-1000.

Knowlton BJ, Squire LR (1995) Remembering and knowing: two different expressions of declarative memory. J Exp Psychol Learn Mem Cogn 21:699-710.

Knudsen EI (2004) Sensitive periods in the development of the brain and behavior. J Cogn Neurosci 16:1412-1425.

Kosten TA, Lee HJ, Kim JJ (2006) Early life stress impairs fear conditioning in adult male and female rats. Brain Res 1087:142-150.

Kosten TA, Miserendino MJ, Bombace JC, Lee HJ, Kim JJ (2005) Sex-selective effects of neonatal isolation on fear conditioning and foot shock sensitivity. Behav Brain Res 157:235-244.

Krettek JE, Price JL (1978) A description of the amygdaloid complex in the rat and cat with observations on intra-amygdaloid axonal connections. J Comp Neurol 178:255-280.

- L -

LaLumiere RT, Buen TV, McGaugh JL (2003) Post-training intra-basolateral amygdala infusions of norepinephrine enhance consolidation of memory for contextual fear conditioning. J Neurosci 23:6754-6758.

Lamprecht R, LeDoux J (2004) Structural plasticity and memory. Nat Rev Neurosci 5:45-54.

Landers MS, Sullivan RM (1999a) Norepinephrine and associative conditioning in the neonatal rat somatosensory system. Brain Res Dev Brain Res 114:261-264.

Landers MS, Sullivan RM (1999b) Vibrissae-evoked behavior and conditioning before functional ontogeny of the somatosensory vibrissae cortex. J Neurosci 19:5131-5137.

Langdon PE, Harley CW, McLean JH (1997) Increased beta adrenoceptor activation overcomes conditioned olfactory learning deficits induced by serotonin depletion. Brain Res Dev Brain Res 102:291-293.

Lange CG, James W (1967). The emotions (1885). New York: Haener.

Lanuza E, Nader K, Ledoux JE (2004) Unconditioned stimulus pathways to the amygdala: effects of posterior thalamic and cortical lesions on fear conditioning. Neuroscience 125:305-315.

Laroche S (2001a) Les mécanismes de la mémoire. In Pour la Science, Dossier 31: 52-59

Laroche S (2001b) Neuro-modelage des souvenirs. In La recherche 344: 20-24

Laviolette SR, Lipski WJ, Grace AA (2005) A subpopulation of neurons in the medial prefrontal cortex encodes emotional learning with burst and frequency codes through a dopamine D4 receptor-dependent basolateral amygdala input. J Neurosci 25:6066-6075.

Lavond DG, Kim JJ, Thompson RF (1993) Mammalian brain substrates of aversive classical conditioning. Annu Rev Psychol 44:317-342.

Leaton RN, Cassella JV, Borszcz GS (1985) Short-term and long-term habituation of the acoustic startle response in chronic decerebrate rats. Behav Neurosci 99:901-912.

LeDoux JE (1996) Le cerveau des émotions. Paris: Odile Jacob Sciences, 2005.

LeDoux JE (2000) Emotion circuits in the brain. Annu Rev Neurosci 23:155-184.

LeDoux JE, Cicchetti P, Xagoraris A, Romanski LM (1990) The lateral amygdaloid nucleus: sensory interface of the amygdala in fear conditioning. J Neurosci 10:1062-1069.

LeDoux JE, Farb C, Ruggiero DA (1990) Topographic organization of neurons in the acoustic thalamus that project to the amygdala. J Neurosci 10:1043-1054.

LeDoux JE, Iwata J, Cicchetti P, Reis DJ (1988) Different projections of the central amygdaloid nucleus mediate autonomic and behavioral correlates of conditioned fear. J Neurosci 8:2517-2529.

LeDoux JE, Ruggiero DA, Forest R, Stornetta R, Reis DJ (1987) Topographic organization of convergent projections to the thalamus from the inferior colliculus and spinal cord in the rat. J Comp Neurol 264:123-146.

LeDoux JE, Sakaguchi A, Reis DJ (1984) Subcortical efferent projections of the medial geniculate nucleus mediate emotional responses conditioned to acoustic stimuli. J Neurosci 4:683-698.

Lee HJ, Choi JS, Brown TH, Kim JJ (2001) Amygdalar nmda receptors are critical for the expression of multiple conditioned fear responses. J Neurosci 21:4116-4124.

Lee HJ, Kim JJ (1998) Amygdalar NMDA receptors are critical for new fear learning in previously fear-conditioned rats. J Neurosci 18:8444-8454.

Lee Y, Walker D, Davis M (1996) Lack of a temporal gradient of retrograde amnesia following NMDA-induced lesions of the basolateral amygdala assessed with the fear-potentiated startle paradigm. Behav Neurosci 110:836-839.

Lemaire V, Koehl M, Le Moal M, Abrous DN (2000) Prenatal stress produces learning deficits associated with an inhibition of neurogenesis in the hippocampus. Proc Natl Acad Sci U S A 97:11032-11037.

Levine S (1957) Infantile experience and resistance to physiological stress. Science, 126, 405.

Levine S (1962) Plasma-free corticosteroid response to electric shock in rats stimulated in infancy. Science 135:795-796.

Levine S (2001) Primary social relationships influence the development of the hypothalamic--pituitary--adrenal axis in the rat. Physiol Behav 73:255-260.

Levine S (2002) Regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in the neonatal rat: the role of maternal behavior. Neurotox Res 4:557-564.

Levy F, Melo AI, Galef BG, Jr., Madden M, Fleming AS (2003) Complete maternal deprivation affects social, but not spatial, learning in adult rats. Dev Psychobiol 43:177-191.

Li XF, Stutzmann GE, LeDoux JE (1996) Convergent but temporally separated inputs to lateral amygdala neurons from the auditory thalamus and auditory cortex use different postsynaptic receptors: in vivo intracellular and extracellular recordings in fear conditioning pathways. Learn Mem 3:229-242.

Liang KC, McGaugh JL, Yao HY (1990) Involvement of amygdala pathways in the influence of post-training intra-amygdala norepinephrine and peripheral epinephrine on memory storage. Brain Res 508:225-233.

Lieury A (1990) Manuel de psychologie générale. Paris: Dunod.

Lin CH, Yeh SH, Lu KT, Leu TH, Chang WC, Gean PW (2001) A role for the PI-3 kinase signaling pathway in fear conditioning and synaptic plasticity in the amygdala. Neuron 31:841-851.

Lindquist DH, Brown TH (2004) Amygdalar NMDA receptors control the expression of associative reflex facilitation and three other conditional responses. Behav Neurosci 118:36-52.

Linke R, Braune G, Schwegler H (2000) Differential projection of the posterior paralaminar thalamic nuclei to the amygdaloid complex in the rat. Exp Brain Res 134:520-532.

Litaudon P, Cattarelli M (1995) Piriform cortex late activity revealed functional spatial heterogeneity. Neuroreport 6:1377-1380.

Litaudon P, Cattarelli M (1996) Olfactory bulb repetitive stimulations reveal non-homogeneous distribution of the inhibitory processes in the rat piriform cortex. Eur J Neurosci 8:21-29.

Litaudon P, Datiche F, Cattarelli M (1997) Optical recording of the rat piriform cortex activity. Prog Neurobiol 52:485-510.

Liu D, Diorio J, Tannenbaum B, Caldji C, Francis D, Freedman A, Sharma S, Pearson D, Plotsky PM, Meaney MJ (1997) Maternal care, hippocampal glucocorticoid receptors, and hypothalamic-pituitary-adrenal responses to stress. Science 277:1659-1662.

Liubashina O, Jolkkonen E, Pitkanen A (2000) Projections from the central nucleus of the amygdala to the gastric related area of the dorsal vagal complex: a Phaseolus vulgaris-leucoagglutinin study in rat. Neurosci Lett 291:85-88.

Lorenz K (1935) Der Kumpan in der Umwelt des Vogels. J Ornithol, 83:137–213, 289–413.

Lu XC, Slotnick BM, Silberberg AM (1993) Odor matching and odor memory in the rat. Physiol Behav 53:795-804.

Lupien SJ, McEwen BS (1997) The acute effects of corticosteroids on cognition: integration of animal and human model studies. Brain Res Brain Res Rev 24:1-27.

Luskin MB, Price JL (1983a) The topographic organization of associational fibers of the olfactory system in the rat, including centrifugal fibers to the olfactory bulb. J Comp Neurol 216:264-291.

Luskin MB, Price JL (1983b) The laminar distribution of intracortical fibers originating in the olfactory cortex of the rat. J Comp Neurol 216:292-302.

Lynch G, Kessler M, Arai A, Larson J (1990) The nature and causes of hippocampal long-term potentiation. Prog Brain Res 83:233-250.

- M -

MacLean PD (1949) Psychosomatic disease and the "visceral brain": recent development bearing on the Papez theory of emotion. Psychosomatic medicine, 11:338-353.

MacLean PD (1952) Some psychiatric implications of psychological studies on frontotemporal portion of limbic system (visceral brain). Electroencephalography and clinical neurophysiology, 4:407-418.

MacLean PD (1970) The triune brain, emotion and scientific bias. In F. O. Schmitt (Ed.), The neurosciences study program. New York: Rockfeller University Press.

Macri S, Mason GJ, Wurbel H (2004) Dissociation in the effects of neonatal maternal separations on maternal care and the offspring's HPA and fear responses in rats. Eur J Neurosci 20:1017-1024.

Maine de Biran FPG (1799) Influence de l'habitude sur la faculté de penser. Paris: PUF, 1re édition, 1953.

Majchrzak M, Ferry B, Marchand AR, Herbeaux K, Seillier A, Barbelivien A (2006) Entorhinal cortex lesions disrupt fear conditioning to background context but spare fear conditioning to a tone in the rat. Hippocampus 16:114-124.

Majidishad P, Pelli DG, LeDoux JE (1996) Disruption of fear conditioning to contextual stimuli but not to a tone by lesions of the accessory basal nucleus of the amygdala. Soc. Neurosci. Abstr. 22:1116.

Malin EL, McGaugh JL (2006) Differential involvement of the hippocampus, anterior cingulate cortex, and basolateral amygdala in memory for context and footshock. Proc Natl Acad Sci U S A 103:1959-1963.

Marchand AR, Luck D, Di Scala G (2004) Trace fear conditioning: a role for context? Arch Ital Biol 142:251-263.

Maren S (1998) Overtraining does not mitigate contextual fear conditioning deficits produced by neurotoxic lesions of the basolateral amygdala. J Neurosci 18:3088-3097.

Maren S (1999a) Neurotoxic basolateral amygdala lesions impair learning and memory but not the performance of conditional fear in rats. J Neurosci 19:8696-8703.

Maren S (1999b) Long-term potentiation in the amygdala: a mechanism for emotional learning and memory. Trends Neurosci 22:561-567.

Maren S (2000) Auditory fear conditioning increases CS-elicited spike firing in lateral amygdala neurons even after extensive overtraining. Eur J Neurosci 12:4047-4054.

Maren S (2001) Neurobiology of Pavlovian fear conditioning. Annu Rev Neurosci 24:897-931.

Maren S (2005) Building and burying fear memories in the brain. Neuroscientist 11:89-99.

Maren S, Aharonov G, Fanselow MS (1996) Retrograde abolition of conditional fear after excitotoxic lesions in the basolateral amygdala of rats: absence of a temporal gradient. Behav Neurosci 110:718-726.

Maren S, Aharonov G, Fanselow MS (1997) Neurotoxic lesions of the dorsal hippocampus and Pavlovian fear conditioning in rats. Behav Brain Res 88:261-274.

Maren S, Aharonov G, Stote DL, Fanselow MS (1996) N-methyl-D-aspartate receptors in the basolateral amygdala are required for both acquisition and expression of conditional fear in rats. Behav Neurosci 110:1365-1374.

Maren S, Anagnostaras SG, Fanselow MS (1998) The startled seahorse: Is the hippocampus necessary for contextual fear conditioning? Trends in Cognitive Sciences, 2, 39-42.

Maren S, Baudry M (1995) Properties and mechanisms of long-term synaptic plasticity in the mammalian brain: relationships to learning and memory. Neurobiol Learn Mem 63:1-18.

Maren S, Fanselow MS (1995) Synaptic plasticity in the basolateral amygdala induced by hippocampal formation stimulation in vivo. J Neurosci 15:7548-7564.

Maren S, Fanselow MS (1996) The amygdala and fear conditioning: has the nut been cracked? Neuron 16:237-240.

Maren S, Ferrario CR, Corcoran KA, Desmond TJ, Frey KA (2003) Protein synthesis in the amygdala, but not the auditory thalamus, is required for consolidation of Pavlovian fear conditioning in rats. Eur J Neurosci 18:3080-3088.

Maren S, Yap SA, Goosens KA (2001) The amygdala is essential for the development of neuronal plasticity in the medial geniculate nucleus during auditory fear conditioning in rats. J Neurosci 21:RC135.

Martin LT, Alberts JR (1979) Taste aversion to mother's milk: the age-related role of nursing in acquisition and expression of a learned association. Journal of Comparative and Physiological Psychology, 93, 430–45.

Martin SJ, Grimwood PD, Morris RG (2000) Synaptic plasticity and memory: an evaluation of the hypothesis. Annu Rev Neurosci 23:649-711.

Martin SJ, Morris RG (2002) New life in an old idea: the synaptic plasticity and memory hypothesis revisited. Hippocampus 12:609-636.

Mascagni F, McDonald AJ, Coleman JR (1993) Corticoamygdaloid and corticocortical projections of the rat temporal cortex: a Phaseolus vulgaris leucoagglutinin study. Neuroscience 57:697-715.

Matthews K, Robbins TW (2003) Early experience as a determinant of adult behavioural responses to reward: the effects of repeated maternal separation in the rat. Neurosci Biobehav Rev 27:45-55.

Matthews K, Wilkinson LS, Robbins TW (1996) Repeated maternal separation of preweanling rats attenuates behavioral responses to primary and conditioned incentives in adulthood. Physiol Behav 59:99-107.

Maviel T, Durkin TP, Menzaghi F, Bontempi B (2004) Sites of neocortical reorganization critical for remote spatial memory. Science 305:96-99.

McDonald AJ (1998) Cortical pathways to the mammalian amygdala. Prog Neurobiol 55:257-332.

McDonald AJ, Shammah-Lagnado SJ, Shi C, Davis M (1999) Cortical afferents to the extended amygdala. Ann N Y Acad Sci 877:309-338.

McDougall W (1923) Outline of psychology. New York: Scribners.

McGaugh JL (2000) Memory--a century of consolidation. Science 287:248-251.

McGaugh JL (2004) The amygdala modulates the consolidation of memories of emotionally arousing experiences. Annu Rev Neurosci 27:1-28.

McGaugh JL, Cahill L, Roozendaal B (1996) Involvement of the amygdala in memory storage: interaction with other brain systems. Proc Natl Acad Sci U S A 93:13508-13514.

McGaugh JL, McIntyre CK, Power AE (2002) Amygdala modulation of memory consolidation: interaction with other brain systems. Neurobiol Learn Mem 78:539-552.

McGaugh JL, Roozendaal B (2002) Role of adrenal stress hormones in forming lasting memories in the brain. Curr Opin Neurobiol 12:205-210.

McHugh TJ, Blum KI, Tsien JZ, Tonegawa S, Wilson MA (1996) Impaired hippocampal representation of space in CA1-specific NMDAR1 knockout mice. Cell 87:1339-1349.

McIntyre CK, Hatfield T, McGaugh JL (2002) Amygdala norepinephrine levels after training predict inhibitory avoidance retention performance in rats. Eur J Neurosci 16:1223-1226.

McKernan MG, Shinnick-Gallagher P (1997) Fear conditioning induces a lasting potentiation of synaptic currents in vitro. Nature 390:607-611.

McNally RJ (2006) Cognitive abnormalities in post-traumatic stress disorder. Trends Cogn Sci 10:271-277.

Meaney MJ (2001) Maternal care, gene expression, and the transmission of individual differences in stress reactivity across generations. Annu Rev Neurosci 24:1161-1192.

Meaney MJ, Aitken DH, Viau V, Sharma S, Sarrieau A (1989) Neonatal handling alters adrenocortical negative feedback sensitivity and hippocampal type II glucocorticoid receptor binding in the rat. Neuroendocrinology 50:597-604.

Meerlo P, Horvath KM, Nagy GM, Bohus B, Koolhaas JM (1999) The influence of postnatal handling on adult neuroendocrine and behavioural stress reactivity. J Neuroendocrinol 11:925-933.

Meunier M, Bachevalier J, Mishkin M, Murray EA (1993) Effects on visual recognition of combined and separate ablations of the entorhinal and perirhinal cortex in rhesus monkeys. J Neurosci 13:5418-5432.

Meunier M, Hadfield W, Bachevalier J, Murray EA (1996) Effects of rhinal cortex lesions combined with hippocampectomy on visual recognition memory in rhesus monkeys. J Neurophysiol 75:1190-1205.

Milner B (1962) In P. Passouant (Ed.), Physiologie de l'hippocampe (pp. 257-272).

Milner B (1966) Amnesia following operation on the temporal lobe. In C.W.M. Whitty & O.L. Zangwill (Eds.), Amnesia (pp. 109-133).

Mirescu C, Peters JD, Gould E (2004) Early life experience alters response of adult neurogenesis to stress. Nat Neurosci 7:841-846.

Miserendino MJ, Sananes CB, Melia KR, Davis M (1990) Blocking of acquisition but not expression of conditioned fear-potentiated startle by NMDA antagonists in the amygdala. Nature 345:716-718.

Mizukawa K, Tseng IM, Otsuka N (1989) Quantitative electron microscopic analysis of postnatal development of zinc-positive nerve endings in the rat amygdala using Timm's sulphide silver technique. Brain Res Dev Brain Res 50:197-203.

Moore CL, Jordan L, Wong L (1996) Early olfactory experience, novelty, and choice of sexual partner by male rats. Physiol Behav 60:1361-1367.

Morgan MA, LeDoux JE (1995) Differential contribution of dorsal and ventral medial prefrontal cortex to the acquisition and extinction of conditioned fear in rats. Behav Neurosci 109:681-688.

Mori K (1987) Membrane and synaptic properties of identified neurons in the olfactory bulb. Prog Neurobiol 29:275-320.

Moriceau S, Sullivan RM (2004a) Corticosterone influences on Mammalian neonatal sensitive-period learning. Behav Neurosci 118:274-281.

Moriceau S, Sullivan RM (2004b) Unique neural circuitry for neonatal olfactory learning. J Neurosci 24:1182-1189.

Moriceau S, Sullivan RM (2005) Neurobiology of infant attachment. Dev Psychobiol 47:230-242.

Moriceau S, Sullivan RM (2006) Maternal presence serves as a switch between learning fear and attraction in infancy. Nat Neurosci.

Moriceau S, Roth TL, Okotoghaide T, Sullivan RM (2004) Corticosterone controls the developmental emergence of fear and amygdala function to predator odors in infant rat pups. Int J Dev Neurosci 22:415-422.

Moriceau S, Wilson DA, Levine S, Sullivan RM (2006) Dual circuitry for odor-shock conditioning during infancy: corticosterone switches between fear and attraction via amygdala. J Neurosci 26:6737-6748.

Morris RG, Anderson E, Lynch GS, Baudry M (1986) Selective impairment of learning and blockade of long-term potentiation by an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist, AP5. Nature 319:774-776.

Moscovitch M, Nadel L, Winocur G, Gilboa A, Rosenbaum RS (2006) The cognitive neuroscience of remote episodic, semantic and spatial memory. Curr Opin Neurobiol 16:179-190.

Mouly AM, Gervais R (2002) Polysynaptic potentiation at different levels of rat olfactory pathways following learning. Learn Mem 9:66-75.

Mouly AM, Elaagouby A, Ravel N (1995) A study of the effects of noradrenaline in the rat olfactory bulb using evoked field potential response. Brain Res 681:47-57.

Mouly AM, Fort A, Ben-Boutayab N, Gervais R (2001) Olfactory learning induces differential long-lasting changes in rat central olfactory pathways. Neuroscience 102:11-21.

Mulder AB, Nordquist R, Orgut O, Pennartz CM (2000) Plasticity of neuronal firing in deep layers of the medial prefrontal cortex in rats engaged in operant conditioning. Prog Brain Res 126:287-301.

Muller J, Corodimas KP, Fridel Z, LeDoux JE (1997) Functional inactivation of the lateral and basal nuclei of the amygdala by muscimol infusion prevents fear conditioning to an explicit conditioned stimulus and to contextual stimuli. Behav Neurosci 111:683-691.

Myslivecek J (1997) Inhibitory learning and memory in newborn rats. Prog Neurobiol 53:399-430.

- N -

Nader K, Majidishad P, Amorapanth P, LeDoux JE (2001) Damage to the lateral and central, but not other, amygdaloid nuclei prevents the acquisition of auditory fear conditioning. Learn Mem 8:156-163.

Nader K, Schafe GE, LeDoux JE (2000) The labile nature of consolidation theory. Nat Rev Neurosci 1:216-219.

Nadel L, Moscovitch M (1997) Memory consolidation, retrograde amnesia and the hippocampal complex. Curr Opin Neurobiol 7:217-227.

Nadel L, Moscovitch M (2001) The hippocampal complex and long-term memory revisited. Trends Cogn Sci 5:228-230.

Nadel L, Samsonovich A, Ryan L, Moscovitch M (2000) Multiple trace theory of human memory: computational, neuroimaging, and neuropsychological results. Hippocampus 10:352-368.

Nadel L, Willner J (1980) Context and conditioning: a place for space. Physiol Psychol, 8, 218–228.

Neugebauer V, Li W (2003) Differential sensitization of amygdala neurons to afferent inputs in a model of arthritic pain. J Neurophysiol 89:716-727.

Nigrosh BJ, Slotnick BM, Nevin JA (1975) Olfactory discrimination, reversal learning, and stimulus control in rats. J Comp Physiol Psychol 89:285-294.

Nunez JF, Ferre P, Escorihuela RM, Tobena A, Fernandez-Teruel A (1996) Effects of postnatal handling of rats on emotional, HPA-axis, and prolactin reactivity to novelty and conflict. Physiol Behav 60:1355-1359.

Nunez JF, Ferre P, Garcia E, Escorihuela RM, Fernandez-Teruel A, Tobena A (1995) Postnatal handling reduces emotionality ratings and accelerates two-way active avoidance in female rats. Physiol Behav 57:831-835.

- O -

Okutani F, Yagi F, Kaba H (1999) Gabaergic control of olfactory learning in young rats. Neuroscience 93:1297-1300.

Ottersen OP (1982) Connections of the amygdala of the rat. IV: Corticoamygdaloid and intraamygdaloid connections as studied with axonal transport of horseradish peroxidase. J Comp Neurol 205:30-48.

Otto T, Eichenbaum H (1992) Complementary roles of the orbital prefrontal cortex and the perirhinal-entorhinal cortices in an odor-guided delayed-nonmatching-to-sample task. Behav Neurosci 106:762-775.

Otto T, Cousens G, Rajewski K (1997) Odor-guided fear conditioning in rats: 1. Acquisition, retention, and latent inhibition. Behav Neurosci 111:1257-1264.

Otto T, Cousens G, Herzog C (2000) Behavioral and neuropsychological foundations of olfactory fear conditioning. Behav Brain Res 110:119-128.

- P -

Packard MG, Knowlton BJ (2002) Learning and memory functions of the Basal Ganglia. Annu Rev Neurosci 25:563-593.

Packard MG, Williams C, Cahill L, McGaugh JL (1995) The anatomy of a memory modulatory system: from periphery to brain. In N.E. Speer, L.P. Speer and M.L. Woodruff (Eds), Neurobehavioral Plasticity: Learning, Development, and Response to Brain Insults, Lawrence Erlbaum Associates, Hillsdale, NJ.

Padoin MJ, Cadore LP, Gomes CM, Barros HM, Lucion AB (2001) Long-lasting effects of neonatal stimulation on the behavior of rats. Behav Neurosci 115:1332-1340.

Panksepp J (1982) Toward a general psychobiological theory of emotions. Behav and Brain Sci 5: 407-467

Papez JW (1937) A proposed mechanism of emotion. Archives of Neurology and Psychiatry, 79:217-224.

Pare D, Quirk GJ, Ledoux JE (2004) New vistas on amygdala networks in conditioned fear. J Neurophysiol 92:1-9.

Pare D, Smith Y (1993) Distribution of GABA immunoreactivity in the amygdaloid complex of the cat. Neuroscience 57:1061-1076.

Parent MB, Quirarte GL, Cahill L, McGaugh JL (1995) Spared retention of inhibitory avoidance learning after posttraining amygdala lesions. Behav Neurosci 109:803-807.

Paschall GY, Davis M (2002) Olfactory-mediated fear-potentiated startle. Behav Neurosci 116:4-12.

Pavlov IP (1927) Conditioned reflexes. London: Oxford University Press, UK.

Phelps EA, LeDoux JE (2005) Contributions of the amygdala to emotion processing: from animal models to human behavior. Neuron 48:175-187.

Phillips RG, LeDoux JE (1992) Differential contribution of amygdala and hippocampus to cued and contextual fear conditioning. Behav Neurosci 106:274-285.

Phillips RG, LeDoux JE (1994) Lesions of the dorsal hippocampal formation interfere with background but not foreground contextual fear conditioning. Learn Mem 1:34-44.

Pinching AJ, Powell TP (1971) The neuron types of the glomerular layer of the olfactory bulb. J Cell Sci 9:305-345.

Pinching AJ, Powell TP (1972) Experimental studies on the axons intrinsic to the glomerular layer of the olfactory bulb. J Cell Sci 10:637-655.

Pitkanen A, Savander V, LeDoux JE (1997) Organization of intra-amygdaloid circuitries in the rat: an emerging framework for understanding functions of the amygdala. Trends Neurosci 20:517-523.

Pitkanen A, Stefanacci L, Farb CR, Go GG, LeDoux JE, Amaral DG (1995) Intrinsic connections of the rat amygdaloid complex: projections originating in the lateral nucleus. J Comp Neurol 356:288-310.

Platon Le Ménon. Paris: Flammarion, 1991.

Platon Le Théétète. Paris: Flammarion, 1994.

Poremba A, Gabriel M (2001) Amygdalar efferents initiate auditory thalamic discriminative training-induced neuronal activity. J Neurosci 21:270-278.

Poulos AM, Fanselow M (2005) Lesions of the bed nucleus of the stria terminalis disrupt expression of contextual fear in intact or basolateral nucleus of the amygdala-lesioned rats. Program No. 414.24. Abstract Viewer/Itinerary Planner. Washington, DC: Society for Neuroscience, 2005.

Power AE, Thal LJ, McGaugh JL (2002) Lesions of the nucleus basalis magnocellularis induced by 192 IgG-saporin block memory enhancement with posttraining norepinephrine in the basolateral amygdala. Proc Natl Acad Sci U S A 99:2315-2319.

Price JL (1973) An autoradiographic study of complementary laminar patterns of termination of afferent fibers to the olfactory cortex. J Comp Neurol 150:87-108.

Proust M (1913) Du côté de chez Swann. Paris: Flammarion, 1987.

Pryce CR, Feldon J (2003) Long-term neurobehavioural impact of the postnatal environment in rats: manipulations, effects and mediating mechanisms. Neurosci Biobehav Rev 27:57-71.

Pryce CR, Ruedi-Bettschen D, Dettling AC, Feldon J (2002) Early life stress: long-term physiological impact in rodents and primates. News Physiol Sci 17:150-155.

- Q -

Quirarte GL, Galvez R, Roozendaal B, McGaugh JL (1998) Norepinephrine release in the amygdala in response to footshock and opioid peptidergic drugs. Brain Res 808:134-140.

Quirk GJ, Armony JL, LeDoux JE (1997) Fear conditioning enhances different temporal components of tone-evoked spike trains in auditory cortex and lateral amygdala. Neuron 19:613-624.

Quirk GJ, Garcia R, Gonzalez-Lima F (2006) Prefrontal Mechanisms in Extinction of Conditioned Fear. Biol Psychiatry.

Quirk GJ, Repa C, LeDoux JE (1995) Fear conditioning enhances short-latency auditory responses of lateral amygdala neurons: parallel recordings in the freely behaving rat. Neuron 15:1029-1039.

- R -

Rajecki DW, Lamb ME, Obmascher P (1978). Towards a general theory of infantile attachment: A comparative review of aspects of the social bond. The Behavioral and Brain Sciences , 3, 417-464

Rattiner LM, Davis M, French CT, Ressler KJ (2004) Brain-derived neurotrophic factor and tyrosine kinase receptor B involvement in amygdala-dependent fear conditioning. J Neurosci 24:4796-4806.

Richardson R, Vishney A, Lee J (1999) Conditioned odor potentiation of startle in rats. Behav Neurosci 113:787-794.

Robin O, Alaoui-Ismaili O, Dittmar A, Vernet-Maury E (1999) Basic emotions evoked by eugenol odor differ according to the dental experience. A neurovegetative analysis. Chem Senses 24:327-335.

Rodrigues SM, Schafe GE, LeDoux JE (2004) Molecular mechanisms underlying emotional learning and memory in the lateral amygdala. Neuron 44:75-91.

Rogan MT, LeDoux JE (1995) PLT is accompanied by commensurate enhancement of auditory-evoked responses in a fear conditioning circuit. Neuron 15:127-136.

Rogan MT, Staubli UV, LeDoux JE (1997) Fear conditioning induces associative long-term potentiation in the amygdala. Nature 390:604-607.

Romanski LM, LeDoux JE (1992a) Equipotentiality of thalamo-amygdala and thalamo-cortico-amygdala circuits in auditory fear conditioning. J Neurosci 12:4501-4509.

Romanski LM, LeDoux JE (1992b) Bilateral destruction of neocortical and perirhinal projection targets of the acoustic thalamus does not disrupt auditory fear conditioning. Neurosci Lett 142:228-232.

Romanski LM, Clugnet MC, Bordi F, LeDoux JE (1993) Somatosensory and auditory convergence in the lateral nucleus of the amygdala. Behav Neurosci 107:444-450.

Roozendaal B, McGaugh JL (1996a) The memory-modulatory effects of glucocorticoids depend on an intact stria terminalis. Brain Res 709:243-250.

Roozendaal B, McGaugh JL (1996b) Amygdaloid nuclei lesions differentially affect glucocorticoid-induced memory enhancement in an inhibitory avoidance task. Neurobiol Learn Mem 65:1-8.

Roozendaal B, McGaugh JL (1997a) Basolateral amygdala lesions block the memory-enhancing effect of glucocorticoid administration in the dorsal hippocampus of rats. Eur J Neurosci 9:76-83.

Roozendaal B, McGaugh JL (1997b) Glucocorticoid receptor agonist and antagonist administration into the basolateral but not central amygdala modulates memory storage. Neurobiol Learn Mem 67:176-179.

Roozendaal B, Portillo-Marquez G, McGaugh JL (1996) Basolateral amygdala lesions block glucocorticoid-induced modulation of memory for spatial learning. Behav Neurosci 110:1074-1083.

Rosen JB (2004) The neurobiology of conditioned and unconditioned fear: a neurobehavioral system analysis of the amygdala. Behav Cogn Neurosci Rev 3:23-41.

Rosen JB, Hitchcock JM, Miserendino MJ, Falls WA, Campeau S, Davis M (1992) Lesions of the perirhinal cortex but not of the frontal, medial prefrontal, visual, or insular cortex block fear-potentiated startle using a visual conditioned stimulus. J Neurosci 12:4624-4633.

Rosenkranz JA, Grace AA (2002a) Dopamine-mediated modulation of odour-evoked amygdala potentials during pavlovian conditioning. Nature 417:282-287.

Rosenkranz JA, Grace AA (2002b) Cellular mechanisms of infralimbic and prelimbic prefrontal cortical inhibition and dopaminergic modulation of basolateral amygdala neurons in vivo. J Neurosci 22:324-337.

Rosenkranz JA, Moore H, Grace AA (2003) The prefrontal cortex regulates lateral amygdala neuronal plasticity and responses to previously conditioned stimuli. J Neurosci 23:11054-11064.

Rosenzweig MR, Leiman AL, Breedlove SM (1998) Psychobiologie. Bruxelles: De Boeck.

Roth TL, Sullivan RM (2001) Endogenous opioids and their role in odor preference acquisition and consolidation following odor-shock conditioning in infant rats. Dev Psychobiol 39:188-198.

Roth TL, Sullivan RM (2003) Consolidation and expression of a shock-induced odor preference in rat pups is facilitated by opioids. Physiol Behav 78:135-142.

Royer S, Martina M, Pare D (1999) An inhibitory interface gates impulse traffic between the input and output stations of the amygdala. J Neurosci 19:10575-10583.

Royet JP, Plailly J (2004) Lateralization of olfactory processes. Chem Senses 29:731-745.

Rudy JW (1993) Contextual conditioning and auditory cue conditioning dissociate during development. Behav Neurosci 107:887-891.

Rudy JW, Cheatle MD (1977) Odor-aversion learning in neonatal rats. Science 198:845-846.

Rudy JW, Morledge P (1994) Ontogeny of contextual fear conditioning in rats: implications for consolidation, infantile amnesia, and hippocampal system function. Behav Neurosci 108:227-234.

Rumsey JD, Darby-King A, Harley CW, McLean JH (2001) Infusion of the metabotropic receptor agonist, DCG-IV, into the main olfactory bulb induces olfactory preference learning in rat pups. Brain Res Dev Brain Res 128:177-179.

Ryan L, Nadel L, Keil K, Putnam K, Schnyer D, Trouard T, Moscovitch M (2001) Hippocampal complex and retrieval of recent and very remote autobiographical memories: evidence from functional magnetic resonance imaging in neurologically intact people. Hippocampus 11:707-714.

- S -

Saar D, Barkai E (2003) Long-term modifications in intrinsic neuronal properties and rule learning in rats. Eur J Neurosci 17:2727-2734.

Saar D, Grossman Y, Barkai E (1998) Reduced after-hyperpolarization in rat piriform cortex pyramidal neurons is associated with increased learning capability during operant conditioning. Eur J Neurosci 10:1518-1523.

Saar D, Grossman Y, Barkai E (1999) Reduced synaptic facilitation between pyramidal neurons in the piriform cortex after odor learning. J Neurosci 19:8616-8622.

Sah P, Faber ES, Lopez De Armentia M, Power J (2003) The amygdaloid complex: anatomy and physiology. Physiol Rev 83:803-834.

Sala M, Perez J, Soloff P, Ucelli di Nemi S, Caverzasi E, Soares JC, Brambilla P (2004) Stress and hippocampal abnormalities in psychiatric disorders. Eur Neuropsychopharmacol 14:393-405.

Savander V, LeDoux JE, Pitkanen A (1996) Topographic projections from the periamygdaloid cortex to select subregions of the lateral nucleus of the amygdala in the rat. Neurosci Lett 211:167-170.

Scalia F, Winans SS (1975) The differential projections of the olfactory bulb and accessory olfactory bulb in mammals. J Comp Neurol 161:31-55.

Schachter S, Singer JE (1962) Cognitive, social, and physiological determinants of emotional state. Psychological Review, 69, 379-99.

Schafe GE, Atkins CM, Swank MW, Bauer EP, Sweatt JD, LeDoux JE (2000) Activation of ERK/MAP kinase in the amygdala is required for memory consolidation of pavlovian fear conditioning. J Neurosci 20:8177-8187.

Schafe GE, LeDoux JE (2000) Memory consolidation of auditory pavlovian fear conditioning requires protein synthesis and protein kinase A in the amygdala. J Neurosci 20:RC96.

Scharfman HE, Witter MP, Schwarcz R (2000) The parahippocampal region. Implications for neurological and psychiatric diseases. Introduction. Ann N Y Acad Sci 911:ix-xiii.

Schenberg EE, Soares JC, Oliveira MG (2005) Effects of pre- or post-training entorhinal cortex AP5 injection on fear conditioning. Physiol Behav 86:508-515.

Schettino LF, Otto T (2001) Patterns of Fos expression in the amygdala and ventral perirhinal cortex induced by training in an olfactory fear conditioning paradigm. Behav Neurosci 115:1257-1272.

Schoenbaum G, Setlow B, Ramus SJ (2003) A systems approach to orbitofrontal cortex function: recordings in rat orbitofrontal cortex reveal interactions with different learning systems. Behav Brain Res 146:19-29.

Schore AN (2001) The effects of early relational trauma on right brain development, affect regulation, and infant mental health. Infant. Ment Health J 22:201-269

Schuman EM, Madison DV (1994) Nitric oxide and synaptic function. Annu Rev Neurosci 17:153-183.

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

Sevelinges Y, Gervais R, Messaoudi B, Granjon L, Mouly AM (2004) Olfactory fear conditioning induces field potential potentiation in rat olfactory cortex and amygdala. Learn Mem 11:761-769.

Shi C, Davis M (1999) Pain pathways involved in fear conditioning measured with fear-potentiated startle: lesion studies. J Neurosci 19:420-430.

Shimamura AP, Squire LR (1987) A neuropsychological study of fact memory and source amnesia. J Exp Psychol Learn Mem Cogn 13:464-473.

Shinnick-Gallagher P, McKernan MG, Xie J, Zinebi F (2003) L-type voltage-gated calcium channels are involved in the in vivo and in vitro expression of fear conditioning. Ann N Y Acad Sci 985:135-149.

Shipley MT, Ennis M (1996) Functional organization of olfactory system. J Neurobiol 30:123-176.

Shipley MT, Halloran FJ, de la Torre J (1985) Surprisingly rich projection from locus coeruleus to the olfactory bulb in the rat. Brain Res 329:294-299.

Skinner BF (1938) The behavior of organisms. An experimental analysis. New York: Appleton-Century-Crofts.

Slotnick BM (1994) The enigma of olfactory learning revisited. Neuroscience 58:1-12.

Slotnick BM (2001) Animal cognition and the rat olfactory system. Trends Cogn Sci 5:216-222.

Soderling TR (1996) Modulation of glutamate receptors by calcium/calmodulin-dependent protein kinase II. Neurochem Int 28:359-361.

Sorg BA, Swindell S, Tschirgi ML (2004) Repeated low level formaldehyde exposure produces enhanced fear conditioning to odor in male, but not female, rats. Brain Res 1008:11-19.

Sotres-Bayon F, Bush DE, LeDoux JE (2004) Emotional perseveration: an update on prefrontal-amygdala interactions in fear extinction. Learn Mem 11:525-535.

Spitz René (1968) De la naissance à la parole. (La première année de la vie). Paris: P.U.F.

Squire LR (1992) Memory and the hippocampus: a synthesis from findings with rats, monkeys, and humans. Psychol Rev 99:195-231.

Squire LR (2004) Memory systems of the brain: a brief history and current perspective. Neurobiol Learn Mem 82:171-177.

Squire LR, Alvarez P (1995) Retrograde amnesia and memory consolidation: a neurobiological perspective. Curr Opin Neurobiol 5:169-177.

Squire LR, Kandel ER (2002) La mémoire: De l'esprit aux molécules. Bruxelles: De Boeck Université.

Squire LR, Knowlton B, Musen G (1993) The structure and organization of memory. Annu Rev Psychol 44:453-495.

Squire LR, Zola-Morgan S (1991) The medial temporal lobe memory system. Science 253:1380-1386.

Stanton ME (2000) Multiple memory systems, development and conditioning. Behav Brain Res 110:25-37.

Stevens CF (1998) A million dollar question: does PLT = memory? Neuron 20:1-2.

Sullivan RM (2001) Unique characteristics of neonatal classical conditioning: the role of the amygdala and locus coeruleus. Int Physiol and Behav Sci 36: 293-307.

Sullivan RM (2003) Developing a sense of safety: the neurobiology of neonatal attachment. Ann N Y Acad Sci 1008:122-131.

Sullivan RM (2005) Developmental changes in olfactory behavior and limbic circuitry. Chem Senses 30 Suppl 1:i152-i153.

Sullivan RM, Landers M, Yeaman B, Wilson DA (2000) Good memories of bad events in infancy. Nature 407:38-39.

Sullivan RM, McGaugh JL, Leon M (1991) Norepinephrine-induced plasticity and one-trial olfactory learning in neonatal rats. Brain Res Dev Brain Res 60:219-228.

Sullivan RM, Stackenwalt G, Nasr F, Lemon C, Wilson DA (2000) Association of an odor with activation of olfactory bulb noradrenergic beta-receptors or locus coeruleus stimulation is sufficient to produce learned approach responses to that odor in neonatal rats. Behav Neurosci 114:957-962.

Sullivan RM, Wilson DA, Leon M (1989) Norepinephrine and learning-induced plasticity in infant rat olfactory system. J Neurosci 9:3998-4006.

Sutherland RJ, Rudy RJ (1989). Configural association theory: the role of the hippocampal formation in learning, memory, and amnesia. Psychobiology, 17, 129–144.

Swann J, Rahaman F, Bijak T, Fiber J (2001) The main olfactory system mediates pheromone-induced fos expression in the extended amygdala and preoptic area of the male Syrian hamster. Neuroscience 105:695-706.

Swanson LW, Petrovich GD (1998) What is the amygdala? Trends Neurosci 21:323-331.

- T -

Tambourin P (1982) Recherche et expérimentation animale, Sciences et Avenir, numéro spécial 37, pp. 14-19.

Tang AC (2001) Neonatal exposure to novel environment enhances hippocampal-dependent memory function during infancy and adulthood. Learn Mem 8:257-264.

Tang YP, Shimizu E, Dube GR, Rampon C, Kerchner GA, Zhuo M, Liu G, Tsien JZ (1999) Genetic enhancement of learning and memory in mice. Nature 401:63-69.

Tazumi T, Hori E, Uwano T, Umeno K, Tanebe K, Tabuchi E, Ono T, Nishijo H (2005) Effects of prenatal maternal stress by repeated cold environment on behavioral and emotional development in the rat offspring. Behav Brain Res 162:153-160.

Teicher MH, Andersen SL, Polcari A, Anderson CM, Navalta CP, Kim DM (2003) The neurobiological consequences of early stress and childhood maltreatment. Neurosci Biobehav Rev 27:33-44.

Tiberghien G, Abdi H, Desclés J-P, Georgieff N, Jeannerod M, Le Ny J-F, Livet P, Pynte J, Sabah G (2002) Dictionnaire des Sciences Cognitives. Paris: Armand Colin.

Tikhonravov DL, Shapovalova KB, Dyubkacheva TA (1997) Effects of microinjection of scopolamine into the neostriatum of rats on performance of a food conditioned reflex at different levels of fixation. Neurosci Behav Physiol 27:312-318.

Tolman EC (1948) Cognitive maps in the rats and man. Psychological Review, 55, 189-208.

Tsvetkov E, Carlezon WA, Benes FM, Kandel ER, Bolshakov VY (2002) Fear conditioning occludes PLT-induced presynaptic enhancement of synaptic transmission in the cortical pathway to the lateral amygdala. Neuron 34:289-300.

Tulving E (1985) How many memory systems are there? American psychologist, 40, 385-398.

Turner BH, Herkenham M (1991) Thalamoamygdaloid projections in the rat: a test of the amygdala's role in sensory processing. J Comp Neurol 313:295-325.

- U -

Uys JD, Muller CJ, Marais L, Harvey BH, Stein DJ, Daniels WM (2006) Early life trauma decreases glucocorticoid receptors in rat dentate gyrus upon adult re-stress: reversal by escitalopram. Neuroscience 137:619-625.

- V -

Vallee M, Mayo W, Dellu F, Le Moal M, Simon H, Maccari S (1997) Prenatal stress induces high anxiety and postnatal handling induces low anxiety in adult offspring: correlation with stress-induced corticosterone secretion. J Neurosci 17:2626-2636.

Vargha-Khadem F, Gadian DG, Watkins KE, Connelly A, Van Paesschen W, Mishkin M (1997) Differential effects of early hippocampal pathology on episodic and semantic memory. Science 277:376-380.

Vazdarjanova A, McGaugh JL (1999) Basolateral amygdala is involved in modulating consolidation of memory for classical fear conditioning. J Neurosci 19:6615-6622.

Vermetten E, Bremner JD (2003) Olfaction as a traumatic reminder in posttraumatic stress disorder: case reports and review. J Clin Psychiatry 64:202-207.

Verwer RW, Van Vulpen EH, Van Uum JF (1996) Postnatal development of amygdaloid projections to the prefrontal cortex in the rat studied with retrograde and anterograde tracers. J Comp Neurol 376:75-96.

Vincent JD (2003) Le cœur des autres Une biologie de la compassion. Paris: Plon.

Viskontas IV, McAndrews MP, Moscovitch M (2000) Remote episodic memory deficits in patients with unilateral temporal lobe epilepsy and excisions. J Neurosci 20:5853-5857.

Vouimba RM, Garcia R, Baudry M, Thompson RF (2000) Potentiation of conditioned freezing following dorsomedial prefrontal cortex lesions does not interfere with fear reduction in mice. Behav Neurosci 114:720-724.

- W -

Walker DL, Davis M (1997) Double dissociation between the involvement of the bed nucleus of the stria terminalis and the central nucleus of the amygdala in startle increases produced by conditioned versus unconditioned fear. J Neurosci 17:9375-9383.

Walker DL, Paschall GY, Davis M (2005) Glutamate receptor antagonist infusions into the basolateral and medial amygdala reveal differential contributions to olfactory vs. context fear conditioning and expression. Learn Mem 12:120-129.

Walker DL, Toufexis DJ, Davis M (2003) Role of the bed nucleus of the stria terminalis versus the amygdala in fear, stress, and anxiety. Eur J Pharmacol 463:199-216.

Wallace KJ, Rosen JB (2001) Neurotoxic lesions of the lateral nucleus of the amygdala decrease conditioned fear but not unconditioned fear of a predator odor: comparison with electrolytic lesions. J Neurosci 21:3619-3627.

Watanabe Y, Ikegaya Y, Saito H, Abe K (1995) Roles of GABAA, NMDA and muscarinic receptors in induction of long-term potentiation in the medial and lateral amygdala in vitro. Neurosci Res 21:317-322.

Watson JB (1929) Behaviorism, New York: Norton.

Watson JB, Rayner R (1920) Conditioned emotional reactions. Journal of Experimental Psychology, 3, 1-14.

Weinstock MG (2005) The potential influence of maternal stress hormones on development and mental health of the offspring. Brain Behav Immun 19:296-308.

Weisskopf MG, Bauer EP, LeDoux JE (1999) L-type voltage-gated calcium channels mediate NMDA-independent associative long-term potentiation at thalamic input synapses to the amygdala. J Neurosci 19:10512-10519.

Wilensky AE, Schafe GE, LeDoux JE (1999) Functional inactivation of the amygdala before but not after auditory fear conditioning prevents memory formation. J Neurosci 19:RC48.

Wilson DA (1998) Synaptic correlates of odor habituation in the rat anterior piriform cortex. J Neurophysiol 80:998-1001.

Wilson DA (2000) Odor specificity of habituation in the rat anterior piriform cortex. J Neurophysiol 83:139-145.

Wiltgen BJ, Sanders MJ, Anagnostaras SG, Sage JR, Fanselow MS (2006) Context fear learning in the absence of the hippocampus. J Neurosci 26:5484-5491.

Witter MP, Wouterlood FG, Naber PA, Van Haeften T (2000) Anatomical organization of the parahippocampal-hippocampal network. Ann N Y Acad Sci 911:1-24.

- Y -

Yaniv D, Schafe GE, LeDoux JE, Richter-Levin G (2001) A gradient of plasticity in the amygdala revealed by cortical and subcortical stimulation, in vivo. Neuroscience 106:613-620.

Yasui Y, Breder CD, Saper CB, Cechetto DF (1991) Autonomic responses and efferent pathways from the insular cortex in the rat. J Comp Neurol 303:355-374.

Yeh KY (1984) Corticosterone concentrations in the serum and milk of lactating rats: parallel changes after induced stress. Endocrinology 115:1364-1370.

Yin HH, Knowlton BJ (2006) The role of the basal ganglia in habit formation. Nat Rev Neurosci 7:464-476.

Young SL, Bohenek DL, Fanselow MS (1994) NMDA processes mediate anterograde amnesia of contextual fear conditioning induced by hippocampal damage: immunization against amnesia by context preexposure. Behav Neurosci 108:19-29.

- Z -

Zinebi F, Xie J, Liu J, Russell RT, Gallagher JP, McKernan MG, Shinnick-Gallagher P (2003) NMDA currents and receptor protein are downregulated in the amygdala during maintenance of fear memory. J Neurosci 23:10283-10291.

Zola-Morgan S, Squire LR (1993) Neuroanatomy of memory. Annu Rev Neurosci 16:547-563.

Annexes

Annexe 1: Déclaration universelle des droits de l'animal

Déclaration Universelle

des Droits de l'Animal

PRÉAMBULE

Considérant que la Vie est une, tous les êtres vivants ayant une origine commune et s'étant différenciés au cours de l'évolution des espèces,

Considérant que tout être vivant possède des droits naturels et que tout animal doté d'un système nerveux possède des droits particuliers,

Considérant que le mépris, voire la simple méconnaissance de ces droits naturels provoquent de graves atteintes à la Nature et conduisent l'homme à commettre des crimes envers les animaux,

Considérant que la coexistence des espèces dans le monde implique la reconnaissance par l'espèce humaine du droit à l'existence des autres espèces animales,

Considérant que le respect des animaux par l'homme est inséparable du respect des hommes entre eux,

IL EST PROCLAME CE QUI SUIT :

Article premier

Tous les animaux ont des droits égaux à l'existence dans le cadre des équilibres biologiques.

Cette égalité n'occulte pas la diversité des espèces et des individus.

Article 2

Toute vie animale a droit au respect.

Article 3

1- Aucun animal ne doit être soumis à de mauvais traitements ou à des actes cruels.

2- Si la mise à mort d'un animal est nécessaire, elle doit être instantanée, indolore et non génératrice d'angoisse.

3- L'animal mort doit être traité avec décence.

Article 4

1- L'animal sauvage a le droit de vivre libre dans son milieu naturel, et de s'y reproduire.

2- La privation prolongée de sa liberté, la chasse et la pêche de loisir, ainsi que toute utilisation de l'animal sauvage à d'autres fins que vitales, sont contraires à ce droit.

Article 5

1- L'animal que l'homme tient sous sa dépendance a droit à un entretien et à des soins attentifs.

2- Il ne doit en aucun cas être abandonné, ou mis à mort de manière injustifiée.

3- Toutes les formes d'élevage et d'utilisation de l'animal doivent respecter la physiologie et le comportement propres à l'espèce.

4- Les exhibitions, les spectacles, les films utilisant des animaux doivent aussi respecter leur dignité et ne comporter aucune violence.

Article 6

1- L'expérimentation sur l'animal impliquant une souffrance physique ou psychique viole les droits de l'animal.

2- Les méthodes de remplacement doivent être développées et systématiquement mises en œuvre.

Article 7

Tout acte impliquant sans nécessité la mort d'un animal et toute décision conduisant à un tel acte constituent un crime contre la vie.

Article 8

1- Tout acte compromettant la survie d'une espèce sauvage, et toute décision conduisant à un tel acte constituent un génocide, c'est à dire un crime contre l'espèce.

2- Le massacre des animaux sauvages, la pollution et la destruction des biotopes sont des génocides.

Article 9

1- La personnalité juridique de l'animal et ses droits doivent être reconnus par la loi.

2- La défense et la sauvegarde de l'animal doivent avoir des représentants au sein des organismes gouvernementaux.

Article 10

L'éducation et l'instruction publique doivent conduire l'homme, dès son enfance, à observer, à comprendre, et à respecter les animaux.

La Déclaration Universelle des Droits de l'Animal a été proclamée solennellement à Paris, le 15 octobre 1978, à la Maison de l'Unesco. Son texte révisé par la Ligue Internationale des Droits de l'Animal en 1989, a été rendu public en 1990.

Annexe 2: Charte d'éthique de l'expérimentation animale

LA DOULEUR DE L'ANIMAL AU COURS D'UNE EXPERIMENTATION

conduite à tenir pour la **déceler**, la **prévenir** et /ou la **traiter**

Ce document de sensibilisation a été réalisé à l'initiative du Comité Régional d'Ethique pour l'expérimentation animale de la Région Rhône-Alpes. Il n'est en rien un traité de thérapeutique, il s'agit d'un instrument de travail destiné à aider le chercheur qui a le devoir d'assumer pleinement ses responsabilités envers l'animal d'expérimentation.

Il décrit, pour les espèces animales les plus utilisées, les principaux signes d'expression du phénomène douleur et indique quelques uns des moyens d'y remédier.
En cas de doute ou de difficulté, le chercheur ou le technicien peut se référer à des lectures plus précises (voir bibliographie) ou solliciter l'aide d'un spécialiste.

Charte pour une éthique de l'expérimentation animale

Guide pratique CNRS - novembre 2003

Article 1 : de la nécessité de l'expérimentation animale
Les nécessités de la recherche biologique, médicale, ou vétérinaire, et les limites actuelles des méthodes alternatives, rendent incontournable le recours à l'expérimentation animale pour faire progresser les connaissances, améliorer le diagnostic et le traitement des maladies, et d'une manière générale préserver la santé.

Article 2 : de la sensibilité et de la souffrance chez les animaux
Les animaux sont des êtres sensibles et pourvus de capacités cognitives et émotionnelles. Ils sont capables de souffrir. L'expérimentateur a le devoir de s'assurer que leur santé et leur bien-être ne sont pas inutilement menacés. La prévention de toute souffrance inutile sera son premier souci.

Article 3 : de la qualification de l'expérimentateur
Les connaissances scientifiques et techniques sont en progression constante. L'expérimentateur doit veiller à entretenir et étendre ses propres compétences et celles de ses collaborateurs. Il doit être à même de garantir la mise en oeuvre des techniques les mieux adaptées à la réalisation de ses objectifs scientifiques dans le respect des besoins physiologiques et comportementaux des espèces animales utilisées.

Article 4 : de la responsabilité de l'expérimentateur
Expérimenter sur des animaux est un acte de responsabilité personnelle. L'expérimentateur s'engage à se conformer en tous points aux exigences légales et réglementaires en vigueur. L'expérimentateur a aussi une responsabilité morale vis à vis des animaux qu'il utilise à des fins scientifiques. Il lui appartient donc de tout mettre en oeuvre pour fonder l'éthique de sa démarche, notamment quant à la légitimité de l'objet de la recherche et à la pertinence des méthodes envisagées pour la conduire, et pour s'assurer d'une probabilité raisonnable que ses études conduisent à l'acquisition de connaissances nouvelles.

Article 5 : de l'utilité d'une délibération éthique
L'expérimentateur ne peut être seul juge de la légitimité éthique de ses propres travaux lorsqu'ils mettent en cause ses rapports avec des êtres vivants. La communauté scientifique dans son ensemble éprouve également le besoin d'enrichir sa réflexion sur ce qui est tolérable et ce qui ne l'est pas, appelant ainsi la création de comités d'éthique spécifiques.

Article 6 : du rôle de Comités d'éthique en expérimentation animale
Ces comités apprécient la compatibilité entre les protocoles expérimentaux proposés et les principes éthiques, afin d'aider l'expérimentateur dans sa démarche lorsque le recours à l'animal s'impose. Ils ont pour objet de constituer une garantie complémentaire, pour la société dans son ensemble, du respect de la vie animale et du bien fondé de la demande scientifique.

Pour en savoir plus

Comment se fournir en médicaments ?

le décret du 21 mai 2003, permet aux établissements disposant d'un agrément pour l'expérimentation animale de se fournir en médicaments vétérinaires et certains médicaments humains pourvu qu'ils aient un usage en relation avec les programmes de recherche. Toutefois, une personne titulaire de l'autorisation d'expérimenter doit tenir un registre du stock de ces produits.
Pour les morphiniques, il faut faire appel à la prescription sur ordonnance sécurisée par un médecin ou un vétérinaire.

Protocoles douloureux

Le décret du 29 mai 2001 indique que lorsque les expériences sont incompatibles avec l'emploi d'anesthésiques ou d'analgésiques, leur nombre doit être réduit au strict minimum (...). Ces expériences (...), doivent être expressément déclarées et justifiées (...), préalablement à leur mise en œuvre.

Il ne peut être procédé sans anesthésie ou analgésie à plus d'une intervention douloureuse sur un même animal.

Bibliographie

Classification des expériences sur animaux, selon leur degré de gravité (catégories de contrainte)
Office Vétérinaire Fédéral Suisse
http://www.bvet.admin.ch/tierschutz/f/berichte_publikationen/tierversuche/116104.pdf
http://www.bvet.admin.ch/tierschutz/f/berichte_publikationen/tierversuche/116105.pdf

Expérimentation animale mode d'emploi
H. Brugère et col.
éd. INSERM, 1992

Pain Management in animals
Flecknell P., Waterman-Pearson A.
W.B. Saunders, 2000

Recognizing pain and distress in laboratory animals
Carstens E. and Moberg G. P., Ilar J, 41 (2) ; 62-71, 2000

Numéro Spécial Douleur
Association vétérinaire pour l'anesthésie et l'analgésie animales (4 AVET)
La Dépêche Vétérinaire, 2004 (à paraître)

Remerciements :
Comité d'Éthique, Service d'Anesthésie-Analgésie-Réanimation et Bureau de la Communication de l'École Nationale Vétérinaire de Lyon

LA DOULEUR DE L'ANIMAL AU COURS D'UNE EXPERIMENTATION

La **douleur** est une **expérience** sensorielle et/ou émotionnelle désagréable causée par une atteinte tissulaire réelle ou potentielle qui provoque des réactions motrices et végétatives protectrices conduisant à la modification du comportement spécifique de l'individu (International Association for the Study of Pain)
La gestion de la douleur chez l'animal de laboratoire doit comprendre **plusieurs étapes** :

❶ Le classement du protocole envisagé selon le palier de douleur prévisible,
❷ La mise en place d'un protocole analgésique préalable à l'intervention,
❸ La reconnaissance des signes de la douleur ; observation de l'animal avant et après la procédure,
❹ L'évaluation régulière du palier de douleur constatée après l'intervention et mise en place du traitement adapté. ❷

Attention à **ne pas confondre** agents **anesthésiques** qui souvent ne font qu'abolir la perception

❶ Les signes de la douleur (liste non exhaustive)

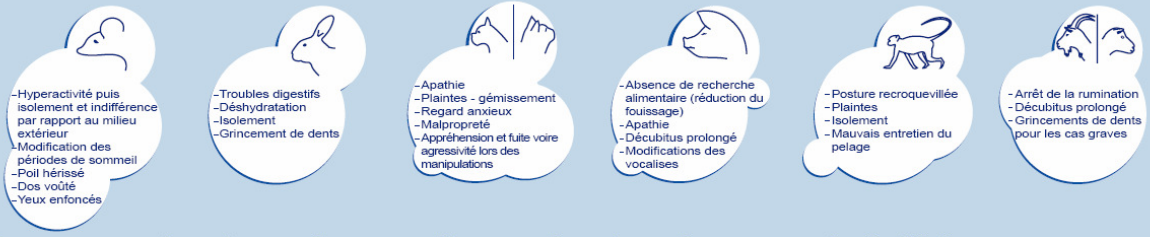
Des signes communs à toutes les espèces

Signes physiologiques :
Tachycardie
Augmentation Fréquence Respiratoire
Modifications neuroendocriniennes

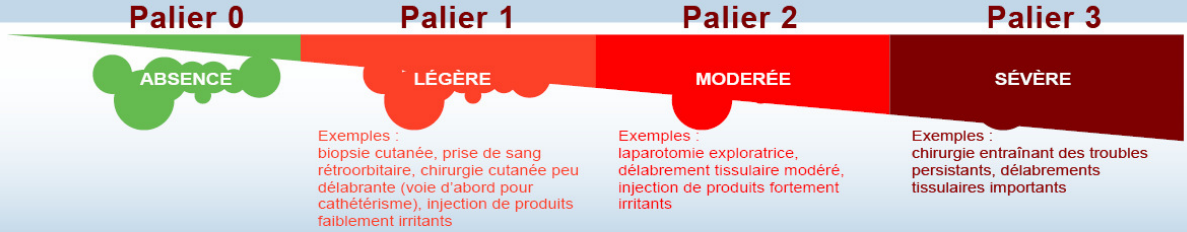
Signes comportementaux :
Réduction de l'appétit
Diminution du comportement exploratoire
Fuite ou défense à la manipulation
Vocalises
Automutilation dans les cas graves

Apparences :
Poil piqué, terne, mal entretenu
Expression faciale ou regard modifiée
Posture inhabituelle

Des signes spécifiques



❷ Description des paliers de douleur prévisibles



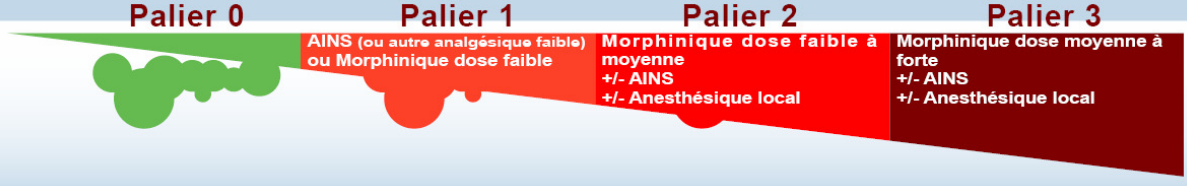
Exemples :
biopsie cutanée, prise de sang rétroorbitaire, chirurgie cutanée peu délabrante (voie d'abord pour cathétérisme), injection de produits faiblement irritants

Exemples :
laparotomie exploratrice, délabrement tissulaire modéré, injection de produits fortement irritants

Exemples :
chirurgie entraînant des troubles persistants, délabrements tissulaires importants

❸ Schéma thérapeutique

Le choix des méthodes d'analgésie et des molécules est vaste. Il doit être daptée à chaque cas et à chaque espèce. L'analgésie sera si possible préventive sinon curative et **régulièrement ajustée** en fonction des observations renouvelées sur l'animal.



Exemples d'AINS :
kétoprofène, méloxicam, carprofène, phenylbutazone, acide acétyl salicylique,
et agents analgésiques faibles :
paracetamol (contre-indiqué chez le chat)

Exemples de morphiniques :
morphine, buprénorphine, fentanyl, mépéridine

Exemples d'anesthésiques locaux :
lidocaïne, bupivacaïne

Liste des figures

et

des portrait

Chapitre 1

Liste des figures

Figure 1.1 Courbe d'oubli de Ebbinghaus
Figure 1.2 Lésion du patient H.M.
Figure 1.3 Chronologie des expériences sur le patient H.M.
Figure 1.4 Test de l'étoile
Figure 1.5 Les différents types de mémoire
Figure 1.6 La potentialisation à long terme
Figure 1.7 Exemple de signaux rétrogrades
Figure 1.8 Affiche de soutien à l'expérimentation animale

Liste des portraits

Portrait 1 Platon 428-348 avant notre ère
Portrait 2 René Descartes 1596-1650
Portrait 3 Maine de Biran 1766-1824
Portrait 4 Williams James 1842-1910
Portrait 5 Eduard Claparède 1873-1940
Portrait 6 William Scoville et Brenda Milner
Portrait 7 Friedrich Skinner (1904-1990)

Chapitre 2

Liste des figures

Figure 2.1 Les quatre émotions de base de Panksepp (1982)
Figure 2.2 Liste des émotions de base selon différents auteurs
Figure 2.3 Expression comportementale des émotions chez les animaux d'après Darwin
Figure 2.4 Schéma des émotions selon les théories de James-Lang et de Cannon-Bard

Figure 2.5 Le circuit de Papez (1937)

Figure 2.6 Les deux voies de traitement de la peur dans le système visuel selon Joseph LeDoux

Figure 2.7 Neuromodulation de la mémoire par les hormones de stress via l'amygdale

Liste des portraits

Portrait 8 Charles Darwin (1809-1882)

Portrait 9 Walter Cannon (1871-1945)

Portrait 10 Phillip Bard (1898-1977)

Portrait 11 James Papez (1883-1958)

Portrait 12 Paul MacLean

Portrait 13 Antonio Damasio

Portrait 14 Joseph LeDoux

Chapitre 3

Liste des figures

Figure 3.1 Pavlov en démonstration

Figure 3.2 Schéma du paradigme de peur conditionnée au son

Figure 3.3 Parallèle entre les situations de peurs expérimentales (A) et naturelles (B)

Figure 3.4 Schéma de l'amygdale

Figure 3.5 Les systèmes fonctionnels de l'amygdale de Swanson et Petrovich (1998)

Figure 3.6 Bilan des voies de traitement des stimuli conditionnel et inconditionnel

Figure 3.7 Modèle d'unicité de l'amygdale de LeDoux et collaborateurs

Figure 3.8 Modèle de multiplicité de l'amygdale

Figure 3.9 Schéma des deux hypothèses d'apprentissage possible du contexte

Liste des portraits

Portrait 15 Ivan Pavlov (1849-1936)

Portrait 16 Karl Burdach (1776-1847)

Chapitre 4

Liste des figures

Figure 4.1 Photo d'un cerveau de rat. Le bulbe olfactif est cerclé de jaune
Figure 4.2 Schéma représentant les différentes couches cellulaires du bulbe olfactif
Figure 4.3 Schéma des principales voies de projection du bulbe olfactif

Chapitre 5

Liste des figures

Figure 5.1 Photo d'un raton de neuf jours
Figure 5.2 Schéma de l'axe corticotrope
Figure 5.3 Photo d'un raton de treize jours
Figure 5.4 Photo d'un labyrinthe en Y utilisé lors de test de choix des ratons
Figure 5.5 … avec ses oies
Figure 5.6 Mesure en 2-DG de l'activation du cortex piriforme antérieur (CPa) et postérieur (CPp) lors du conditionnement à l'âge adulte

Liste des portraits

Portrait 17 John Bowlby (1907-1990)
Portrait 18 Konrad Lorenz… (1903-1989)
Portrait 19 René Spitz (1887-1974)
Portrait 20 Harry Harlow (1906-1981)

Chapitre 6

Figure 6.1 Parallèle entre le modèle LeDoux (A) et celui proposé pour l'olfaction (B)

Figure 6.2 Modèle théorique des voies d'apprentissage du conditionnement de peur à l'odeur: voies dépendantes de l'amygdale pour une odeur témoin (citral, à gauche) et indépendantes pour une odeur apprise en bas âge (menthe, à droite)

Figure 6.3 Modèle théorique rendant compte de l'activation de l'amygdale lors du conditionnement de peur au citral (à gauche) ou à la menthe (à droite)

Posters

et

Présentations orales

Posters:

Yannick Sevelinges, Stéphanie Moriceau, Kyle Muzny, Parker Holman, Catrine Miner, Rémi Gervais, Anne-Marie Mouly and Regina Sullivan (6-12 juin 2006)
Memory of Infant Trauma: Infant fear conditioning attenuates adult learning.
5ème Forum of European Neurosciences, Vienne (Autriche)

Yannick Sevelinges, Stephanie Moriceau, Kyle Muzny, Rémi Gervais, Anne-Marie Mouly and Regina Sullivan (24 aril 2006)
Neonatal fear conditioning attenuates adult fear conditioning and amygdale involvement.
Colloque IPSEN: Mémoire, molécules et circuits, Paris (France)

Yannick Sevelinges, Stephanie Moriceau, Kyle Muzny, Rémi Gervais, Anne-Marie Mouly and Regina Sullivan (12-17 Novembre 2005)
Neonatal fear conditioning attenuates adult fear conditioning and amygdale involvement.
Society for Neurosciences, 35th Annual meeting, Washington (Etats-Unis)

Yannick Sevelinges, Stephanie Moriceau, Kyle Muzny, Rémi Gervais, Anne-Marie Mouly and Regina Sullivan (9-12 Novembre 2005)
Neonatal fear conditioning attenuates adult fear conditioning and amygdale involvement.
International Society for Developmental Psychobiology, 38th Annual meeting, Washington (Etats-Unis)

Yannick Sevelinges, Stephanie Moriceau, Kyle Muzny, Rémi Gervais, Anne-Marie Mouly and Regina Sullivan (13-14 Septembre 2005)
Neonatal fear conditioning attenuates adult fear conditioning and amygdale involvement.
GDR Neurobiologie de la Mémoire, Lyon (France)

Yannick Sevelinges, Rémi Gervais, Belkacem Messaoudi, Lionel Granjon and Anne-Marie Mouly (14 Octobre 2004)
Olfactory fear conditioning induces field potential potentiation in rat olfactory cortex and amygdala.
The developing brain: genes and toxins. 13th annual Oklahoma Center for Neurosciences (OCNS) Symposium, Oklahoma-City (Etats-Unis)

Yannick Sevelinges, Rémi Gervais, Belkacem Messaoudi, Lionel Granjon et Anne-Marie Mouly (12-15 Septembre 2004)
Olfactory fear conditioning induces field potential potentiation in rat olfactory cortex and amygdala.
European Chemoreception Research Organisation (ECRO), Dijon (France)

Yannick Sevelinges, Rémi Gervais, Belkacem Messaoudi, Lionel Granjon et Anne-Marie Mouly (May 14-19, 2004)
Olfactory fear conditioning induces field potential potentiation in rat olfactory cortex and amygdala.
Neural mechanisms of learning and memory. Conférence EURESCO, Obernai (France)

Yannick Sevelinges, Rémi Gervais, Belkacem Messaoudi, Lionel Granjon et Anne-Marie Mouly (Septembre 17-20, 2003)
Olfactory fear conditioning induces field potential potentiation in rat olfactory cortex and amygdala.
35th European Brain and Behavior Society (EBBS) meeting, Barcelone (Spain)

Présentations orales:

Laboratoire de René Garcia, Laboratoire de Neurobiologie et psychopathologie, Université de Nice Sophia Antipolis, 12 juin 2006

Laboratoire de Leslie Kay, Institute for Mind and Biology, University of Chicago, 22 septembre 2005