Les circuits neuronaux de l'aversion olfactive conditionnée : approche électrophysiologique chez le rat vigile

Julie Chapuis

▶ **To cite this version:**

Julie Chapuis. Les circuits neuronaux de l'aversion olfactive conditionnée : approche électrophysiologique chez le rat vigile. Médecine humaine et pathologie. Université Claude Bernard - Lyon I, 2009. Français. NNT : 2009LYO10059 . tel-00603782

HAL Id: tel-00603782

https://theses.hal.science/tel-00603782

Submitted on 27 Jun 2011

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: 059-2009 Année 2009

THESE

présentée

devant l'UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON 1

Ecole Doctorale Neurosciences et Cognition

pour l'obtention

du DIPLOME DE DOCTORAT

(arrêté du 7 août 2006)

présentée et soutenue publiquement le

4 Mai 2009

par

Julie CHAPUIS

LES CIRCUITS NEURONAUX DE L'AVERSION OLFACTIVE CONDITIONNEE : APPROCHE ELECTROPHYSIOLOGIQUE CHEZ LE RAT VIGILE

Directrice de thèse: Dr. Nadine RAVEL

JURY : Pr. Rémi GERVAIS, Président
Dr. Georges DI SCALA, Rapporteur
Pr. François ROMAN, Rapporteur
Dr. Olivier BERTRAND, Examinateur
Dr. Guillaume FERREIRA, Examinateur
Dr. Nadine RAVEL, 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 J. LIETO
Vice-Président du Conseil des Etudes et de la Vie Universitaire	M. le Professeur D. SIMON
Secrétaire Général	M. G. GAY

SECTEUR SANTE

Composantes

UFR de Médecine Lyon R.T.H. Laënnec	Directeur : M. le Professeur P. COCHAT
UFR de Médecine Lyon Grange-Blanche	Directeur : M. le Professeur X. MARTIN
UFR de Médecine Lyon-Nord	Directeur : M. le Professeur J. ETIENNE
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 MATILLON
Département de Formation et Centre de Recherche en Biologie Humaine	Directeur : M. le Professeur P. FARGE

SECTEUR SCIENCES

Composantes

UFR de Physique	Directeur : Mme. le Professeur S. FLECK
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 G. CLERC
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 S. AKKOUCHE
UFR de Chimie Biochimie	Directeur : Mme. le Professeur H. PARROT
UFR STAPS	Directeur : M. C. COLLIGNON
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

RESUME en français

L'objectif de cette thèse est de décrire le réseau cérébral et la dynamique neuronale qui pourraient servir de support aux aversions alimentaires de type olfactives. Nous avons réalisé des enregistrements multisites de potentiel de champ locaux chez le rat vigile engagé dans cet apprentissage, en proposant deux modes de présentation de l'indice olfactif : à proximité de l'eau de boisson (distal) ou ingéré (distal-proximal). Après apprentissage, la présentation du seul indice distal induit l'émergence d'une activité oscillatoire de forte amplitude dans la bande de fréquence beta (15-40 Hz). Finement corrélée au comportement d'aversion de l'animal, cette activité est proposée comme la signature du réseau de structures fonctionnellement impliquées dans la reconnaissance de l'odeur en tant que signal. Nous montrons que ce réseau peut être plus ou moins étendu selon la façon dont le stimulus a été perçu lors du conditionnement: dans certaines aires (bulbe olfactif, cortex piriforme, amygdale basolatérale, cortex orbitofrontal) la modulation en puissance de l'activité beta se fait indépendamment du mode de conditionnement; dans d'autres aires (cortex insulaire, cortex infralimbique) ces changements ont lieu si et seulement si l'odeur a été ingérée. Complétés par l'étude des interactions fonctionnelles entre ces différentes structures dans la bande de fréquence considérée, ces résultats nous permettent de mieux comprendre comment un stimulus peut être représenté en mémoire dans un réseau cérébral en fonction de l'expérience que l'animal en a fait.

TITRE en anglais

Neural circuits of odor aversion conditioning: Electrophysiological approach on the behaving rat

RESUME en anglais

The goal of this thesis is to describe the dynamic of the neural network involved in food aversion based on olfactory cue. We performed multisite recordings of local field potential in the behaving rat engaged in such aversion learning and offered two modes of presentation of the olfactory cue: either close to drinking water (distal) or ingested (distal-proximal). After learning, the presentation of the distal cue alone induced the emergence of a powerful oscillation in the beta frequency band (15-40 Hz). Finely correlated with the aversive behavior of the animal, this activity has been proposed as the signature of the neural network functionally involved in odor signal recognition. We showed that this network may be more or less extended depending on how the stimulus has been experienced during conditioning: in some areas (olfactory bulb, piriform cortex, basolateral amygdala, orbitofrontal cortex), modulation of beta power were observed whatever the mode of odor presentation; in other areas (insular and infralimbic cortices) these changes took place only if the odor cue has been ingested. Associated to the analysis of transient oscillatory synchronizations between these different structures, these results allowed us to better understand how a stimulus could be represented in memory by a cerebral network depending on the way the animal had experienced it.

Table des matières

Liste des principales abréviations 15

Introduction 19

Chapitre 1. Place de l'olfaction dans la perception alimentaire 25

1.1.Présentation générale du système olfactif 25

1.1.1. Voies orthonasale et rétronasale 26
1.1.2. Architecture fonctionnelle du système olfactif 26
1.1.2.1. L'épithélium olfactif 28
1.1.2.2. Le bulbe olfactif 28
1.1.2.3. Projections olfactives centrales 31

1.2. Intégration différentielle d'une stimulation olfactive orthonasale et rétronasale ? 36

1.2.1. Comparaison au niveau neurophysiologique chez l'animal 39
1.2.2. Etudes psychophysiques chez l'Homme 40
1.2.3. Comparaison au niveau neurophysiologique chez l'Homme 42

Chapitre 2. Aspects comportementaux et neurobiologiques des apprentissages alimentaires aversifs 45

2.1. Les modèles d'aversions alimentaires conditionnées chez le rongeur 45

2.1.1. Caractéristiques générales 45
2.1.2. Importance de la modalité sensorielle mise en jeu comme SC 48

2.2. Substrat neurobiologique des aversions alimentaires 52

2.2.1. Les circuits neuronaux de l'aversion gustative 52
2.2.1.1. Les noyaux du tronc cérébral : sites de convergence naturels du SC et du SI 52
2.2.1.2. Le cortex insulaire 53
2.2.1.3. L'amygdale 55
2.2.1.4. Interactions amygdalo-corticales 56
2.2.1.5. Les autres structures potentiellement impliquées 56
2.2.2. Hypothèses sur les circuits neuronaux l'aversion olfactive 57
2.2.2.1. Place des aires sensorielles olfactives 57
2.2.2.2. L'amygdale 58
2.2.2.3. Le cortex insulaire 60
2.2.2.4. La région hippocampique et le cortex entorhinal 61
2.2.2.5. Les aires néocorticales : cortex orbitofrontal et cortex préfrontal médian 62
2.2.2.6. Conclusion 64

Chapitre 3. Les activités oscillatoires: un marqueur fonctionnel dynamique pour l'étude de la perception et de la mémoire 67

3.1. Le concept de représentation cérébrale par assemblée de neurones synchronisés 67

3.2. Synchronisations oscillatoires ... 68

3.3. Données expérimentales en faveur du concept de représentation par assemblée neuronales synchronisées ... 71

3.3.1. Synchronisation oscillatoire et perception ... 71
3.3.2. Synchronisation oscillatoire et mémoire ... 73

3.4. Les activités oscillatoires dans le système olfactif : lien avec la construction de représentations olfactives ... 75

3.4.1. Les ondes lentes (0-15 Hz) ... 75
3.4.2. Les bouffées d'oscillations dans la bande gamma (60-90 Hz) : un marqueur d'état comportemental ... 76
3.4.3. Les oscillations beta (15-40 Hz) : un marqueur de plasticité et de liage fonctionnel ... 78

Chapitre 4. Problématique ... 83

Résultats expérimentaux ... 87

Présentation du dispositif expérimental ... 89

Etude n° 1 Caractérisation comportementale de l'aversion olfactive conditionnée : modulation par les conditions d'expérience du stimulus conditionnel et influence du délai SC-SI ... 93
Résumé ... 95
Article 1 ... 97

Etude n° 2 Le rappel d'une aversion olfactive engage t'il des réseaux cérébraux différents en fonction du mode de présentaton de l'odeur lors de l'acquisition ? ... 109

Etude 2.a. Caractérisation des changements de dynamique oscillatoire associée à l'aversion olfactive conditionnée au sein de chaque structure ... 115
Résumé ... 115
Article 2 ... 119

Etude 2.b. Dynamique des interactions cérébrales au cours du traitement distal du stimulus conditionnel olfactif ... 151
Rapport préliminaire ... 151

Discussion générale ... 165

1. Résumé des résultats obtenus ... 166

2. Considérations méthodologiques ... 168

2.1. Intérêts et limitations du modèle comportemental ... 168

2.1.1. Le stimulus odorant 168
2.1.2. Comparaison des situations expérimentales distale et distale-proximale 169
2.1.3. La réponse comportementale d'aversion à l'odeur 171

2.2. Intérêts et limitations de l'approche électrophysiologique 173

2.2.1. Le signal de potentiel de champ local 173
2.2.2. Lien entre les activités oscillatoires et le comportement 175

3. Le réseau cérébral de l'AOC 178

3. 1. Un réseau commun aux deux types de conditionnement 178

3. 2. Un réseau sélectif lié à l'ingestion de l'odeur 181

3. 5. Vers un modèle de l'AOC 182

4. Conclusion générale 186

5. Pistes pour de futurs travaux 187

Bibliographie 191

Annexe 213

Liste des principales abréviations

A

AOC : aversion olfactive conditionnée
AGC : aversion gustative conditionnée
AOPG : aversion olfactive potentialisée par le goût

B

BO : bulbe olfactif
BLA : complexe basolatérale de l'amygdale

C

CI : cortex insulaire
CIA : zone agranulaire du cortex insulaire
CID : zone disgranulaire du cortex insulaire
CIG : zone granulaire du cortex insulaire
CIL : cortex infralimbique
CEL : cortex entorhinal latéral
CPFm : cortex préfrontal médian
CP : cortex piriforme
CPA : cortex piriforme antérieur
CPP : cortex piriforme postérieur
CPL: cortex prélimbique
COF : cortex orbitofrontal

L

LiCl : chlorure de lithium

N

NR : neurorécepteur olfactif

P

PCL: potentiel de champ local

R

RC : réponse conditionnée

S

SC : stimulus conditionnel
SI : stimulus inconditionnel

Introduction

Le règne animal se définit par l'hétérotrophie, c'est-à-dire la nécessité pour un organisme vivant de se nourrir de constituants organiques préexistants, d'origine animale ou végétale. A cette fin, un ensemble élaboré de mécanismes neurobiologiques (résumés Figure 1) a émergé au cours de l'évolution pour permettre aux animaux de sélectionner des nourritures saines ou contraire d'éviter les aliments toxiques.

Les animaux sont dotés de systèmes sensoriels en interaction leur permettant de percevoir les caractéristiques de la nourriture. Avant même la consommation, ils commencent par détecter et explorer l'aliment au travers d'indices distaux : son aspect visuel (couleur, forme…) et son odeur. Ensuite, pendant l'ingestion, la nourriture est appréhendée par le biais d'indices proximaux : sa texture, sa température, son goût, éventuellement la stimulation auditive qui accompagne sa consommation (croustillant...), et enfin, à nouveau, son odeur. L'état physiologique de l'individu va moduler cette perception alimentaire: la faim par exemple, est capable d'augmenter la sensibilité olfactive (Janowitz & Grossman, 1949 ; Pager *et al.*, 1972 ; Aimé *et al.*, 2007).

Certaines caractéristiques sensorielles peuvent spontanément attirer l'animal à consommer l'aliment, ou au contraire le repousser. Il existe ainsi des préférences innées pour des goûts sucrés ou des textures grasses, ou des aversions spontanées pour des composés amers ou irritants (pour revue voir Rozin, 2002) ; de même, des fruits à maturité pourront être naturellement appétitifs pour l'animal s'ils arborent des couleurs vives ou produisent certains odorants (Goff & Klee, 2006). Toutefois, et particulièrement pour des animaux présentant un régime alimentaire varié (comme l'Homme ou les rongeurs), ces prédispositions biologiques restent limitées, et il leur est en général difficile de prédire, sur la seule base de ses caractéristiques sensorielles, si une nourriture est ou non potentiellement nutritive ou toxique. La grande majorité de leurs choix seront déterminés au fil de leurs expériences alimentaires.

Lorsqu'un animal est confronté à un aliment nouveau, un premier type de comportement, qualifié de néophobie alimentaire, s'exprime par une réticence à consommer des substances que l'organisme n'a jamais rencontrées auparavant (pour revue voir Royet, 1983). Par la suite, un second type de comportement repose sur la mémorisation des conséquences post-ingestives de la consommation de l'aliment. Si celles-ci sont bénéfiques (rassasiement, apport énergétique …), l'animal va petit à petit sélectionner et intégrer la substance dans son répertoire alimentaire: on parle de préférence alimentaire acquise ; si à l'inverse l'ingestion de l'aliment lui provoque des troubles intestinaux plus ou moins sérieux (malaises, vomissements, douleurs abdominales, diarrhées…), l'animal développera rapidement à son encontre une aversion alimentaire

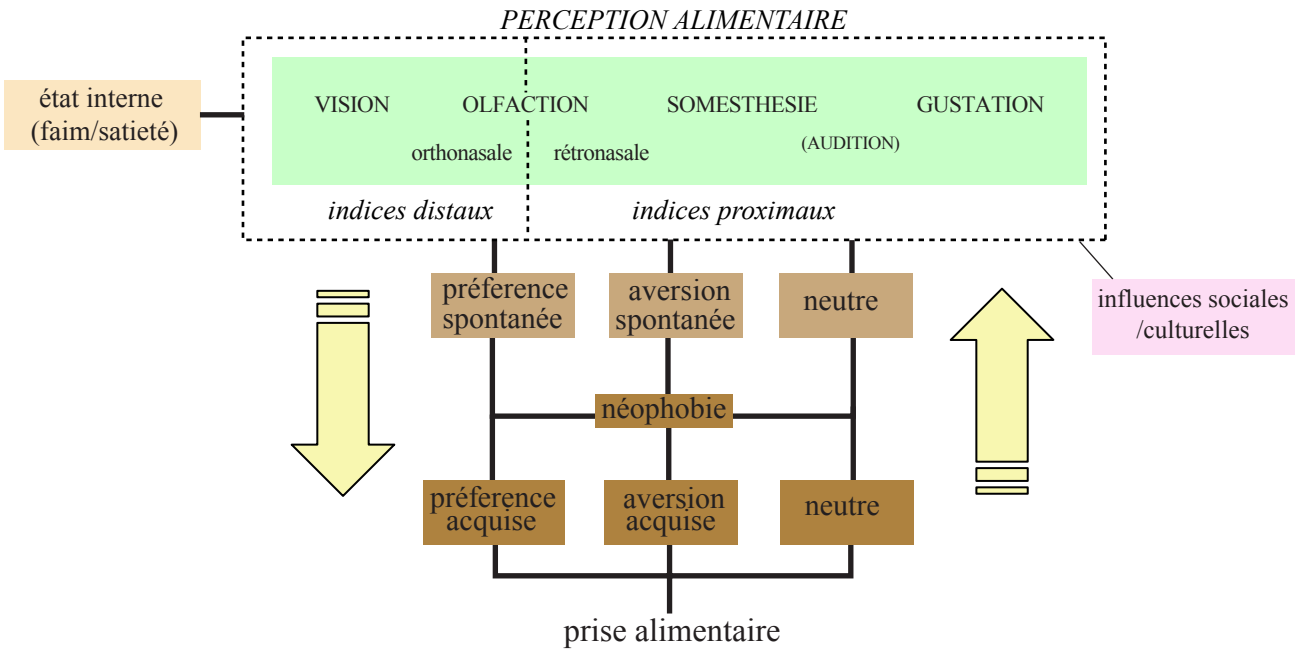


Figure 1. Régulations neurophysiologiques du comportement alimentaire (modifié d'après Forbes, 1986). La palatabilité de l'aliment est déterminée par l'interaction des qualités sensorielles de la nourriture perçues par l'animal, son statut métabolique et son expérience.

conduisant à son évitement. Cet apprentissage repose sur un mécanisme neurobiologique permettant l'association des propriétés sensorielles de la nourriture avec les troubles intestinaux. Dans ce contexte, la question générale à ce travail de thèse concerne l'étude du rôle de l'olfaction dans la mise en place des apprentissages alimentaires de type aversifs d'une part, et d'autre part de savoir dans quelle mesure un apprentissage alimentaire aversif peut en retour moduler la perception olfactive de l'aliment.

Ce manuscrit est organisé en trois grandes sections :

La section introductive présente le contexte scientifique dans lequel s'inscrit ce travail et les questions que j'ai plus spécifiquement choisies d'aborder. Au sein de cette section le premier chapitre présente le système olfactif et s'intéresse à la première étape du comportement alimentaire, la perception des caractéristiques sensorielles de l'aliment, en se focalisant sur la perception olfactive. Le deuxième chapitre décrit l'état actuel des connaissances sur les modèles comportementaux d'aversions alimentaires et leurs substrats neurobiologiques. Enfin, le troisième chapitre porte sur le type d'activité électrophysiologique que nous avons choisi d'étudier : les oscillations du potentiel de champ. On y trouvera en particulier les raisons pour lesquelles leur exploration se présente comme un marqueur fonctionnel de choix pour l'étude du substrat neuronal de la perception et de la mémoire. La section s'achève par l'énoncé de la problématique de la thèse ainsi que ses objectifs détaillés.

La seconde section présente les données expérimentales acquises au cours de cette thèse sous la forme d'articles scientifiques publiés ou en cours de préparation. Le premier mémoire *(travaux publiés)* présente les caractéristiques du modèle comportemental d'aversion olfactive conditionnée mis point. Le second mémoire *(travaux soumis à publication)* vise à déterminer, par l'analyse des activités oscillatoires cérébrales, le substrat neuronal impliqué dans cette expérience olfactive aversive. Le troisième mémoire *(travaux préliminaires)* tend à décrire les relations fonctionnelles dynamiques s'établissant au sein de ces réseaux de structures cérébrales.

Enfin, la troisième section présente une synthèse des résultats obtenus dans les différentes expériences et les interprétations que nous en donnons. La portée des données acquises est discutée en regard des données de la littérature et mise en perspective pour de futurs travaux.

Chapitre 1. Place de l'olfaction dans la perception alimentaire

Bien que l'olfaction ne soit pas un sens à proprement parlé fondamental pour l'espèce humaine, elle contribue grandement à l'appréciation des aliments. Les témoignages de personnes anosmiques, c'est-à-dire présentant une perte partielle ou totale de l'odorat, rapportent de manière courante une altération de la perception alimentaire dans son ensemble, communément (mais improprement !) décrite comme une perte du 'goût' (Deems *et al.*, 1991 ; Heilmann *et al.*, 2002). Nous décrirons comment, lors de la perception alimentaire l'olfaction pourra interagir de manière très étroite avec l'ensemble des autres dimensions sensorielles définissant la nourriture. Chez les vertébrés, et en particulier chez les rongeurs, mammifères macrosmates, l'olfaction est au centre d'une grande variété de comportements liés à la survie de l'animal, comme la reconnaissance mère-jeune (Schaal & Schaal, 1980), la communication entre congénère, la reproduction, la détection de prédateurs (pour revue voir Doty, 1986), ou, ce qui nous intéresse ici, le comportement alimentaire (Le Magnen, 1959). Dans ce cadre, l'originalité de cette modalité sensorielle est qu'elle va à la fois permettre à l'animal de détecter une nourriture à distance et constituer un indice proximal lors de la consommation elle-même. Nous décrirons les bases anatomo-fonctionnelles sous-tendant cette particularité.

1.1. Présentation générale du système olfactif

Le système olfactif se compose de deux sous-systèmes distincts qui traitent en parallèle des informations chimiques différentes: les composés odorants **volatiles** sont détectés par les neurorécepteurs de l'épithélium olfactif qui se projettent sur le système olfactif principal. Les composés chimiques portés par un milieu liquide, comme le sont les phéromones, sont détectées par l'organe voméronasal dont les neurones se projettent sur le système olfactif accessoire. Seul le système olfactif principal sera traité dans cette thèse.

1.1.1. Voies orthonasale et rétronasale

Deux passages anatomiquement distincts permettent aux odorants d'être mis en contact avec les récepteurs olfactifs situés au fond de la cavité nasale (voir Figure 2).

L'olfaction **orthonasale** est mise en jeu lorsque les molécules odorantes de l'environnement (provenant de sources diverses, alimentaires ou non) sont véhiculées jusqu'à l'épithélium olfactif via l'air inspiré par les narines. Le flairage (activité motrice permettant une augmentation de l'amplitude et/ou de la fréquence respiratoire) joue à ce niveau le rôle d'un filtre dynamique permettant à l'animal de contrôler la quantité de molécules odorantes inhalées (Macrides *et al.* 1982; Youngentob *et al.*, 1987 ; Verhagen *et al.*, 2007).

A l'inverse, une stimulation olfactive **rétronasale** se produit lorsqu'un aliment ou une boisson sont mis en bouche. L'action conjuguée de la salive, de la température et de la mastication libèrent les molécules odorantes contenues dans la nourriture ; ces dernières peuvent alors être entrainées jusqu'à l'épithélium olfactif grâce au flux d'air ascendant se produisant au niveau de l'épipharynx pendant l'expiration (Pierce & Halpern, 1996). La fermeture des narines, même couplée à une respiration buccale, abolit la perception olfactive de l'aliment mis en bouche (Murphy *et al.*, 1977 ; Pierce & Halpern, 1996 ; Chen & Halpern, 2008). La dynamique des mouvements de mastication et de déglutition vont (de manière analogue au flairage avant la mise en bouche) déterminer le nombre de molécules odorantes atteignant l'organe récepteur olfactif (Burdach & Doty, 1987).

1.1.2. Architecture fonctionnelle du système olfactif

Le système olfactif présente une organisation générale bien conservée entre les espèces (Stevenson & Wilson, 2007). Il est structuré en plusieurs étages : l'épithélium olfactif en périphérie, le bulbe olfactif qui constitue le premier centre d'intégration central de l'information olfactive, le cortex olfactif primaire recevant des projections directes du bulbe olfactif et le cortex olfactif secondaire, cible des projections du cortex primaire. L'anatomie détaillée du système olfactif ayant fait l'objet de nombreuses revues de synthèse (Hildebrand & Shepherd, 1997; Mori, 1987; Shipley & Ennis, 1996), nous donnerons ici les éléments suffisants à la compréhension des travaux de cette thèse.

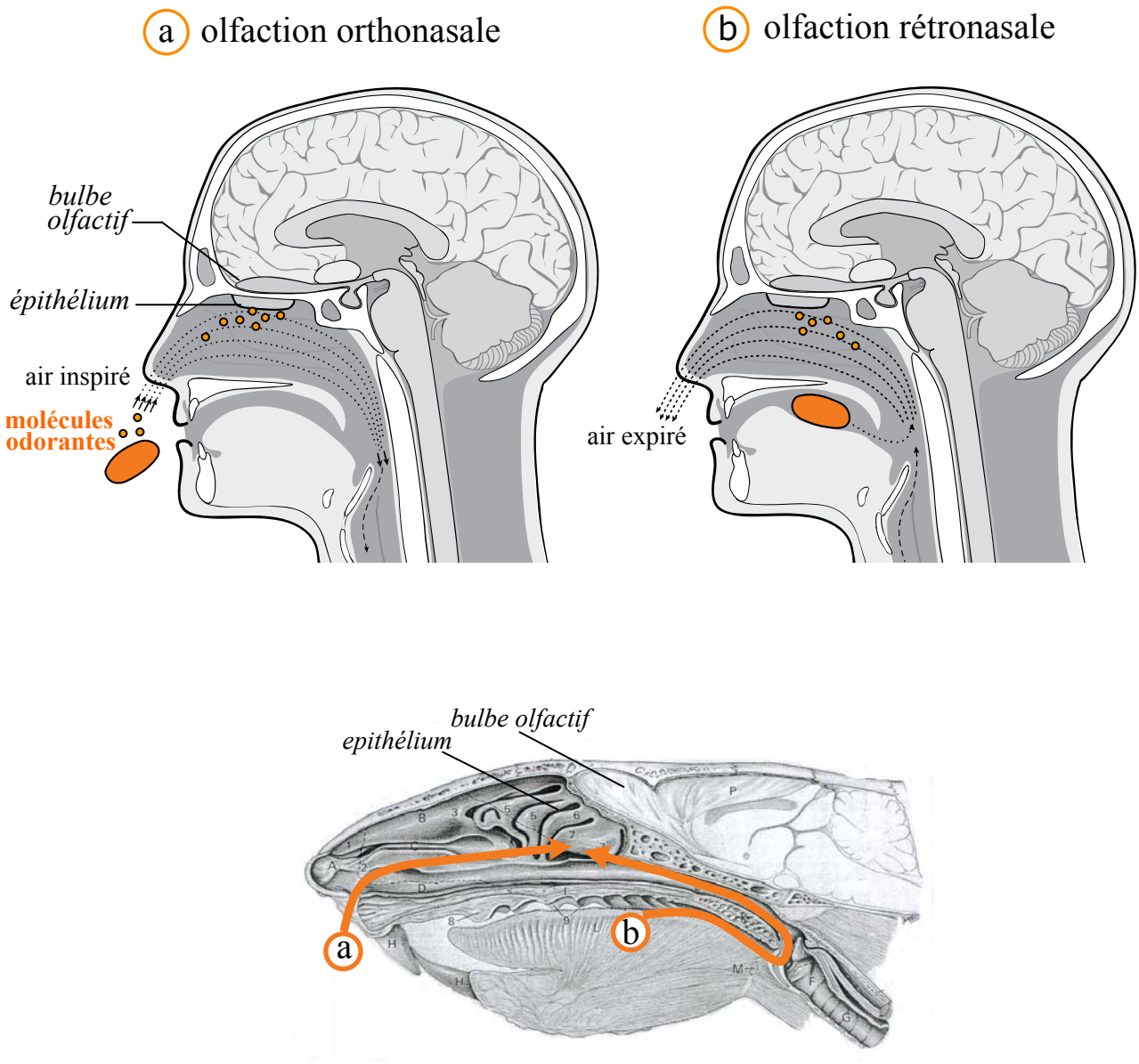


Figure 2. Représentation schématique des voies olfactives orthonasale (a) et rétronasale (b) chez l'Homme (en haut, d'après Shepherd, 2006) et chez le rat (en bas, d'après Hebel & Stromberg, 1976).

1.1.2.1. L'épithélium olfactif

Comme nous l'avons dit précédemment, le signal olfactif est généré par des substances chimiques volatiles présentes dans l'environnement ou apportées par l'alimentation. Ces substances vont être captées par le mucus de la cavité nasale et se lier à des récepteurs moléculaires spécifiques situés au niveau des cils de la dendrite apicale des neurorécepteurs (NR) de l'épithélium olfactif (voir Figure 3). Cette fixation entraine la transduction du message chimique en un message électrique porté par les axones des NRs. Ceux-ci se regroupent pour former le nerf olfactif (nerf crânien I), traversent la lame criblée de l'os ethmoïde et se projettent sur le premier relais de l'information olfactive, le bulbe olfactif (BO). Le neurotransmetteur libéré par les terminaisons axonales des NRs est le glutamate (Ennis *et al.*, 1996).

Les accepteurs ou récepteurs moléculaires olfactifs sont des protéines à 7 domaines trans-membranaires couplées à des protéines G (Mombaerts, 1999). Il existe une immense variété de récepteurs moléculaires : chez le rat et la souris, ils sont codés par près d'un millier de gènes, soit 1 % du génome total (Buck, 1996) ; Cependant chaque NR exprime un nombre limité d'accepteurs membranaires différents (Mombaerts, 2004). L'étude de la topographie des projections de la muqueuse vers le BO a révélé une régionalisation en 4 zones de l'épithélium suivant des axes dorso-ventral et médio-latéral (Ressler *et al.*, 1993 ; Mori *et al.*, 1999 ; Whitby-Logan *et al.*, 2004) : un accepteur membranaire particulier n'est exprimé que dans une des zones, par un petit nombre de NRs non regroupés dans l'espace. Les NRs qui expriment un même récepteur moléculaire convergent à leur tour sur un ou deux glomérules constituant la couche d'entrée du BO. Il existe dès l'étage récepteur une représentation spatiale de l'odeur liée aux accepteurs membranaires qu'elle mobilise. Le codage au niveau de l'épithélium serait donc réalisé par la combinaison des neurorécepteurs activés par une molécule odorante.

1.1.2.2. Le bulbe olfactif

Organisation anatomique et fonctionnelle

Le bulbe olfactif est une structure corticale paire composée de six couches 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 (voir Figure 3). Les axones des neurorécepteurs de l'épithélium

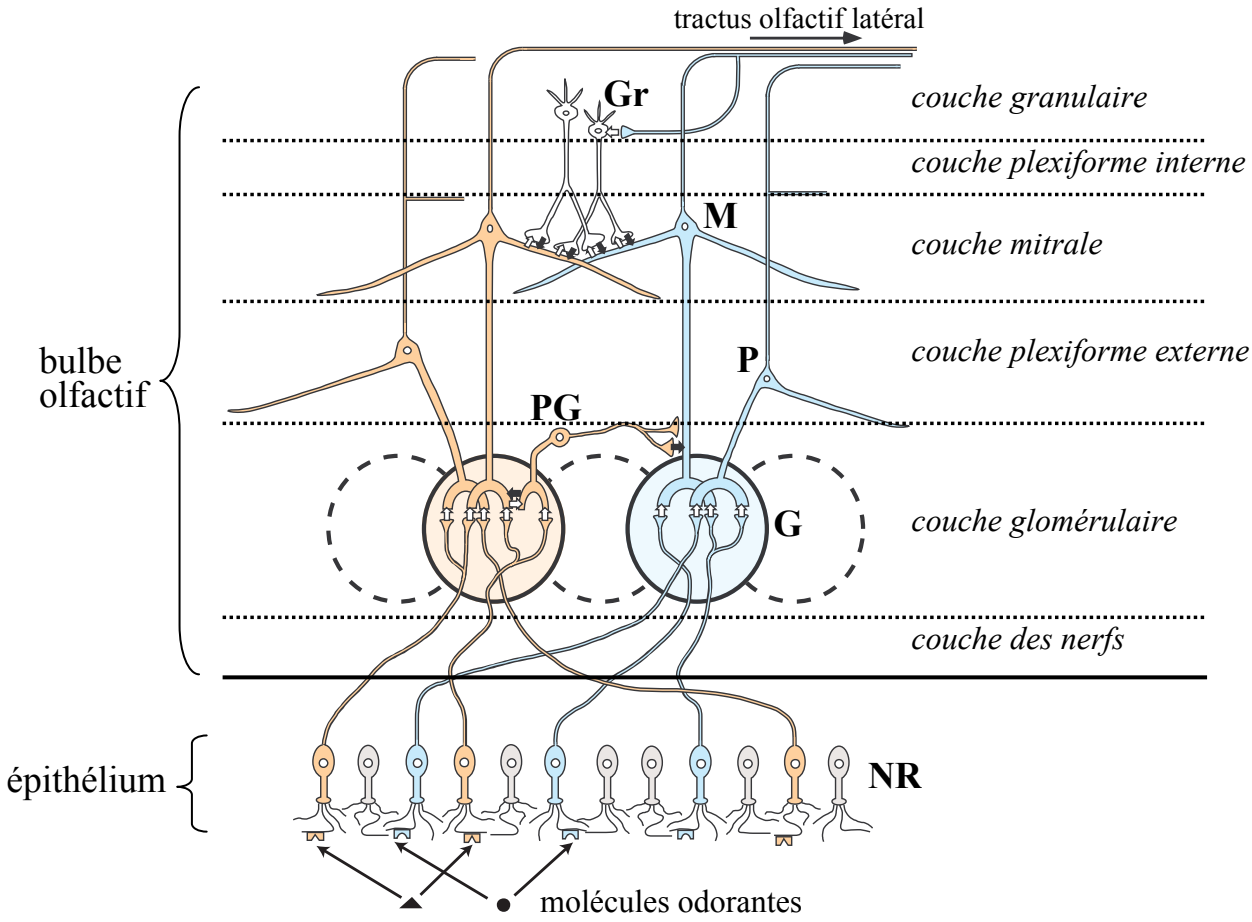


Figure 3. Représentation schématique de l'organisation cellulaire du bulbe olfactif de mammifère. (modifié d'après Mori *et al.*, 1999). Abréviations : NR : neurorécepteurs, G : glomérules, PG : cellules périglomérulaires, P : cellules à panache, M : cellules mitrales, Gr : cellules granulaires.

font synapse sur les dendrites de plusieurs types cellulaires: les cellules mitrales et les cellules à panache, qui constituent les cellules relais du BO, ainsi que les cellules périglomérulaires. Les différentes synapses se font au niveau de sous-unités fonctionnelles, les glomérules. Les glomérules sont des structures sphériques (80 à 160 μm de diamètre) dont la périphérie est délimitée par des cellules gliales et les corps cellulaires des neurones périglomérulaires. L'activité des cellules relais du BO subit deux niveaux de contrôle de part les synapses dendrodendritiques réciproques qu'elles établissent avec les deux classes d'interneurones : les cellules périglomérulaires au niveau du glomérule d'une part et les cellules granulaires d'autre part.

En conséquence de l'organisation que nous avons décrite dans ce qui précède, on comprend que les axones des NRs activés par un odorant déterminent une carte spatiale d'activation glomérulaire précise, autrement dit il existe un patron particulier de glomérules activés par une odeur (Jourdan *et al.*, 1980 ; Guthrie *et al.*, 1995). Cependant, les patrons de réponse à deux odeurs différentes sont partiellement recouvrants et ils s'élargissent avec l'augmentation de la concentration de stimulation (Johnson & Leon, 2000). En outre, cette topographie d'activation des glomérules n'est pas statique mais évolue au cours du cycle respiratoire (Wachowiak & Shipley, 2006).
Au niveau de la couche des cellules principales, le patron d'activation spatiale existe mais est très recouvrant (Johnson *et al.*, 1999) ; en outre, il semble que si les mitrales connectées aux glomérules activés sont actives, il est également possible d'obtenir des réponses aux odeurs dans d'autres régions que celle où le pattern glomérulaire le laisserait prévoir. Divers travaux suggèrent qu'à ce codage spatial se superpose un codage temporel fin achevé par le réseau de cellules mitrales. Au niveau du lobe antennaire des insectes (équivalent du BO), les travaux de Laurent *et al.* (1996) ont montré que chaque odeur pouvait être représentée par une assemblée neuronale ayant un caractère spatio-temporel précis, autrement dit l'évolution temporelle de la synchronisation oscillatoire des neurones principaux de cette assemblée est spécifique du stimulus odorant. Les récents travaux de Cenier *et al.* (2008, 2009) chez le rat anesthésié appuie l'idée que le codage de l'odeur au niveau du bulbe olfactif reposerait sur la formation d'assemblées de cellules mitrales/à panache dont la décharge temporelle serait synchronisée par rapport à l'activité globale de la population et finement modulée par le rythme respiratoire.

Les études effectuées chez l'animal vigile indiquent cependant que les réponses bulbaires à un stimulus olfactif ne sont pas uniquement dépendante des informations apportées

par les NRs mais sont également fortement modulées par le contexte expérimental, l'état interne de l'animal et la signification innée ou acquise de l'odeur (pour revues voir Mainen, 2006 ; Brennan, 2007). Nous aurons l'occasion de revenir sur ce point ultérieurement.

Projections et contrôle centrifuge

L'organisation anatomique des voies olfactives centrales constitue une exception en regard des autres modalités sensorielles car l'information en provenance de la périphérie atteint directement le cortex, sans relais thalamique (voir schéma de synthèse en Figure 4). En effet, au sortir du bulbe olfactif les axones des cellules mitrales et des cellules à panache vont se rassembler en un faisceau d'axones, le tractus olfactif latéral, se projetant sur un ensemble de structures appelé cortex olfactif primaire (pour revue voir Cleland & Linster, 2003). Ce dernier comprend le noyau olfactif antérieur, la *taenia tecta*, le tubercule olfactif, le cortex piriforme (CP), l'amygdale corticale (ACO), le cortex périamygdalien (CpAG) et le cortex enthorinal latéral (CEL). Le CP est la région du cortex olfactif primaire qui reçoit la plus grande partie des afférences bulbaire. Chez le rongeur, des projections anatomiques directes du BO à la zone agranulaire du cortex insulaire ont également été montrées (souris : Shipley & Geinisman, 1984 ; rat : Krushel & Van Der Kooy, 1988). Il est à noter que le BO reçoit en retour une forte densité de fibres centrifuges issues du cortex olfactif primaire, de structures sous-corticales neuromodulatrices et de l'hypothalamus (Haberly & Price, 1978) se terminant par des synapses excitatrices au niveau des cellules granulaires et périglomérulaires. En conséquence, elles sont à l'origine d'un rétrocontrôle négatif de l'activité des neurones principaux par l'intermédiaire de boucles formées par les neurones inhibiteurs et les cellules mitrales.

1.1.2.3. Projections olfactives centrales

Le cortex piriforme

De par sa taille et l'abondance de ses afférences bulbaires, le cortex piriforme constitue la principale structure olfactive corticale. Il s'agit d'un paléocortex à 3 couches cellulaires (Haberly & Price, 1978) interconnectées par un réseau dense de fibres d'association (Haberly &

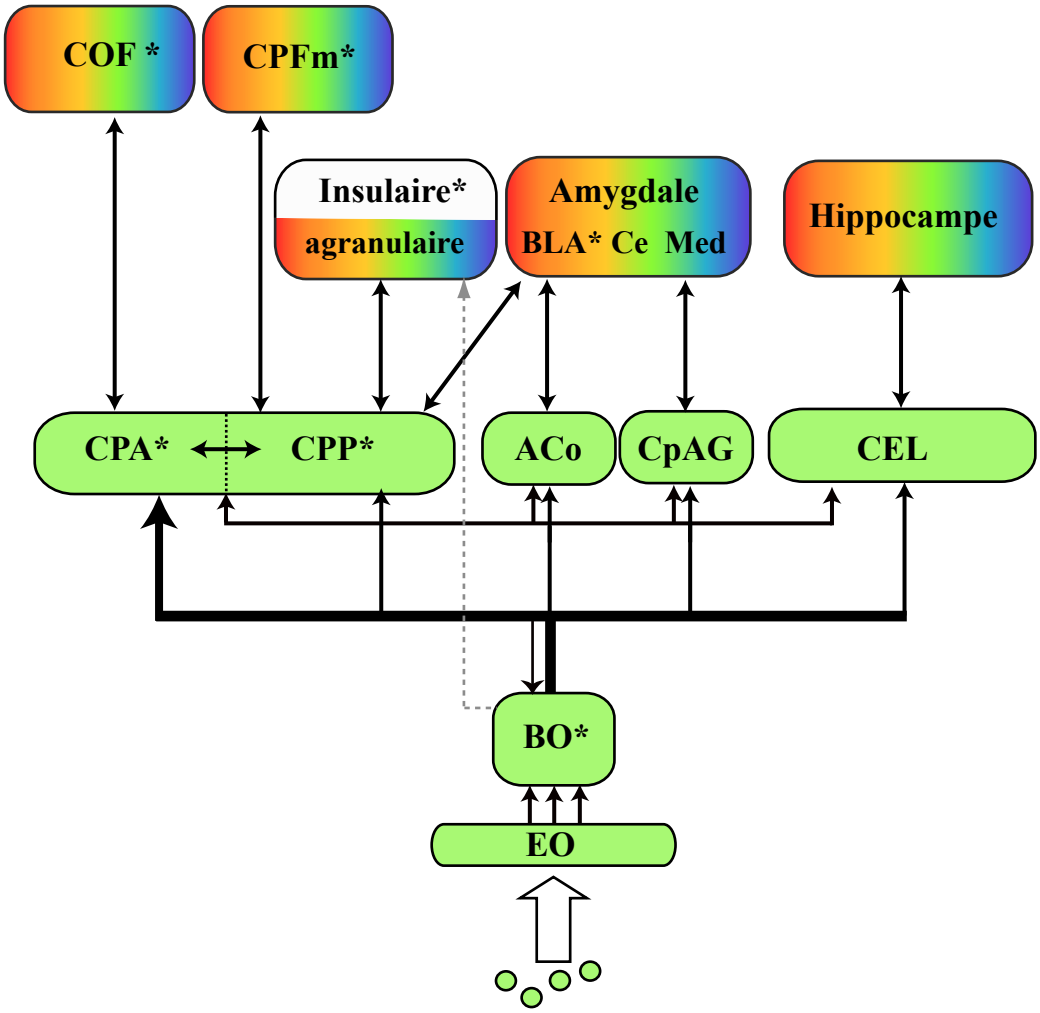


Figure 4. Représentation schématique du système olfactif. Pour la clarté les projections du CP sur le noyau ventro-médian du thalamus ne sont pas représentées ici. Un astérisque indique les régions cérébrales directement étudiées au cours de ce travail.
Abréviations : EO : épithélium olfactif, BO: bulbe olfactif, CPA : cortex piriforme antérieur, CPP : cortex piriforme postérieur, ACo : amygdale corticale, CpAG : cortex périamygdalien, CEL : cortex entorhinal latéral, BLA : noyau basolatéral, Ce : noyau central, Med : noyau médian, COF : cortex orbitofrontal, CPFm : cortex préfrontal médian

Bower, 1989). La couche I, ou couche plexiforme, contient un important système de fibres ainsi que des cellules non-pyramidales ; dans sa partie la plus superficielle (Ia) les axones des cellules mitrales du BO font synapse au niveau des dendrites apicales des cellules pyramidales, la partie plus profonde (Ib) étant le siège d'un système de fibres d'associations. Les couches II et III, plus profondes, renferment les corps cellulaires des cellules pyramidales, qui intègrent l'information en provenance du bulbe olfactif, et des cellules non-pyramidales. Sur la base de données anatomiques et fonctionnelles le CP est subdivisé en deux parties, antérieure (CPA) et postérieure (CPP) (Chabaud *et al.*, 1999, 2000; Haberly, 1973; Litaudon *et al.*,1997; Mouly *et al.*, 2001, 2002 ; Sevelinges *et al.*, 2004), dont la frontière est délimitée par l'artère piriforme. Le CPA reçoit la majorité des afférences bulbaires (Haberly, 1973). Les fibres d'association de la couche I du piriforme regroupent les collatérales des cellules pyramidales et forment deux types d'association, intrinsèque et extrinsèque. Le système intrinsèque assure la communication des cellules pyramidales entre elles et avec les interneurones qui les contrôlent. Il permet également la communication inter-hémisphérique. Le système extrinsèque assure les connections du cortex piriforme avec d'autres structures centrales détaillées ci-après (cf Figure 4).
Situé entre le cortex piriforme et les ganglions de la base, le noyau endopiriforme (EndP) est également considéré comme une formation olfactive (Swanson & Petrovich, 1998) et constitue un relai anatomique additionnel entre le CP et les centres supérieurs (Haberly, 1998).

Le cortex entorhinal, voie d'entrée vers la formation hippocampique

Le cortex entorhinal est une structure corticale appartenant au système limbique. Il est divisé en deux parties : médiane et latérale. Cette dernière est la seule à recevoir des projections du bulbe olfactif et est considéré comme le cortex entorhinal olfactif (Insausti *et al.*, 1997). Le cortex entorhinal latéral (CEL) entretient des relations réciproques denses avec le CP (Haberly & Price, 1978). La principale voie de sortie du CEL est formée par la voie perforante qui projette vers la formation hippocampique ; cette voie se termine au niveau du gyrus denté et des régions CA1 et CA3. Le CEL constitue ainsi la structure relais entre le CP et l'hippocampe (Vanderwolf, 2001). Le CEL projette également sur les différents noyaux de l'amygdale (Krettek & Price, 1977).

L'amygdale

Le terme amygdale regroupe un ensemble hétérogène de 13 noyaux, rassemblés, sur une base structurelle et fonctionnelle en trois principaux groupes (Swanson & Petrovich, 1998 ; Sah *et al.*, 2003 ; Pitkänen *et al.*, 1997):

- Le groupe *cortical* comprenant les noyaux du tractus olfactif latéral et accessoire, les noyaux corticaux (Aco) et le cortex périamygdalien (CpAG). En raison de la densité de projections directes issues du BO et du CP, ce système est considéré comme faisant partie intégrante du cortex olfactif primaire.
- Le groupe *basolatéral*, comprenant les noyaux latéral (LA), basolatéral (BLA) et basal accessoire (BA), est associé au système fronto-temporal. Ce groupe reçoit des projections olfactives du CPp et, de façon majoritaire, celles transitant par l'Amygdale Corticale (Luskin & Price, 1983 ; Savander *et al.*, 1996).
- Le groupe *centromédian*, comprenant les noyaux médian (Med), central (Ce) et la partie amygdaloïde du noyau de la stria terminalis (BNST), vise à moduler le système autonome (hypothalamus, tronc cérébral).

Bien que le groupe cortical soit la cible principale des afférences olfactives, une réponse cellulaire aux odeurs est observée dans les trois groupes de noyaux amygdaliens, dans une proportion de 46 % pour les noyaux corticaux, 42 % pour le noyau basolatéral et 21 % pour le noyau médian (Cain & Bindra, 1972). Il est à noté que le CP établit également des relations indirectes avec l'amygdale via le cortex infralimbique et le cortex insulaire agranulaire (Luskin & Price, 1983, Shipley & Sanders, 1982).

Le cortex insulaire

Le cortex insulaire (CI) occupe la région dorsale au sulcus rhinal et est bordé par les cortex somesthésiques primaire et secondaire. Il s'agit d'un néocortex à 6 couches cellulaires (plus ou moins distinctes) et subdivisé sur critères architectoniques en 3 zones qui sont, selon l'axe dorso-ventral : la zone granulaire (CIG), la zone disgranulaire (CID) et la zone agranulaire (CIA) (Shi & Cassell, 1998 ; Sewards & Sewards, 2001; Aleksandrov & Fedorova, 2003). Ces trois zones sont interconnectées (Shi & Cassel, 1998). L'aire recouvrant les zones granulaire et disgranulaire est définie comme le cortex gustatif primaire (Ogawa *et al.*, 1990) (voir section 1.2.1). Elle ne reçoit pas d'afférences olfactives directes. En revanche, la zone agranulaire est une cible des projections olfactives issues soit directement du BO (chez le rongeur, Shipley &

Geinisman, 1984 ; Krushel & Van Der Kooy, 1988), soit du CP (Luskin & Price, 1983), majoritairement de la partie la plus postérieure (Datiche & Cattarelli, 1996). Le CIA reçoit également des projections indirectes du CP transitant par le noyau endopiriforme (Sewards & Sewards, 2001) ou par le thalamus dorsomédian (Gerfen & Clavier, 1979).

Le néocortex frontal

Le cortex frontal présente une architecture en six couches cellulaires distinctes. Extrêmement développé chez le primate (et *a fortiori* chez l'Homme), il arbore une structure plus petite et moins différenciée chez le rat, bien que sa pertinence fonctionnelle ait toutefois été récemment appuyée (Uylings *et al.*, 2003). Malgré ces différences, Ongür & Price (2000) décrivent une relative conservation des principales connexions anatomiques de cette région entre les espèces. Sur la base de critères architecturaux et fonctionnels, le néocortex frontal est régionalisé en différentes sous-parties (Dalley *et al.*, 2004) dont nous retiendrons principalement:

- la région la plus rostrale du cortex insulaire
- le cortex orbito-frontal (COF) regroupant les cortex orbito-ventral, orbitoventrolatéral et orbito-latéral. Cette région reçoit des afférences olfactives directes issues majoritairement de la partie antérieure du CP (Datiche & Cattarelli, 1996, Jonhson *et al.*, 2000) et indirectes via le thalamus dorsomédian. Des études d'enregistrements unitaires ont montré une réponse des neurones du COF aux odeurs dans des tâches de discrimination olfactives (Tanabe *et al.*, 1975; Schoenbaum & Eichenbaum, 1995) ou après stimulation électrique du cortex piriforme (Motokizawa & Ino, 1983).
- le cortex préfrontal médian (CPFm) regroupant les cortex précentral, cingulaire antérieur, prélimbique (CPL), infralimbique (CIL) et orbito-médian. Contrairement au COF, Le CPFm est principalement interconnecté avec le CP postérieur (Datiche & Cattarelli, 1996 ; Sesack *et al.*, 1989). Cinelli *et al.* (1987) ont montré une réponse des cellules du CPFm suite à la stimulation électrique du BO.

Le COF et le CPFm sont également connectés au cortex insulaire (Ongür & Price 2000 ; Rolls 2001) ainsi qu'au système limbique : l'hippocampe et aux noyaux Ce, Med et BLA de l'amygdale (Pitkänen *et al.*, 2000).

1.2. Intégration différentielle d'une stimulation olfactive orthonasale et rétronasale ?

Lorsque l'on consomme un aliment, la perception que l'on a des arômes dégagés par celui-ci avant et après la mise en bouche peut nous sembler totalement différente. Certains fromages par exemple, se distinguent par une odeur perçue à distance comme forte et désagréable mais qui disparaît dès la mise en bouche. Cet effet peut paraître surprenant du fait qu'un seul organe sensoriel (l'épithélium olfactif) est mis en jeu dans la détection des molécules odorantes, quelque soit leur voie d'accès. Historiquement, Paul Rozin a été un des premiers scientifiques à s'interroger quant à la possible importance fonctionnelle des deux voies ortho- et rétronasale, et à la différence de perception olfactive qu'elles peuvent engendrer. Dans ses travaux, il souligne que "*l'olfaction est la seule modalité sensorielle double, capable de percevoir à la fois les objets du monde extérieur et les objets interne à notre corps (c'est à dire dans la bouche) [...] Ainsi une même stimulation olfactive pourrait être perçue et évaluée de deux façons qualitativement différentes, selon qu'elle fait référence à la bouche ou au monde extérieur*" (traduction personnelle, Rozin, 1982, p. 397).

Plusieurs hypothèses quant aux origines de cette différence de perception ortho- et rétronasale peuvent être formulées. La première concerne le message chimique en lui-même. En effet, la plupart des odeurs naturelles sont des mélanges complexes de plusieurs corps purs ; par exemple, ce qu'on appelle 'l'odeur du chocolat' regroupe en réalité 500 composés odorants différents (Boulanger, 2007). L'action des enzymes salivaires et l'augmentation de la température lors de la mise en bouche pourrait ainsi, de manière plus ou moins rapide, moduler la volatilité de certaines molécules odorantes, voire mettre à disposition du système olfactif des molécules odorantes qui n'étaient pas disponibles avant la mise en bouche (Burdach & Doty, 1987). De plus, la concentration de ces molécules mesurée en divers points de la cavité nasale montre que les odorants atteignent plus ou moins facilement la région de l'épithélium olfactif selon leur nature chimique (Frasnelli *et al.*, 2005). Selon cette idée, puisque le message chimique porté par la voie ortho- et rétronasale est différent, la nature même de la stimulation olfactive s'en trouverait ainsi modifiée.

Une seconde hypothèse s'attache à la dimension multisensorielle de l'aliment, l'olfaction étant rarement le seul stimulus sensoriel à être mis en jeu lors de la prise alimentaire. La différence de perception d'un même composé odorant proposé en ortho- ou en retronasal pourrait trouver son origine dans l'interaction spécifique de ces 'deux' modalités olfactives avec

tel ou tel autre système sensoriel (Rozin, 1982 ; Frasnelli *et al.*, 2004). En effet, alors que l'exploration distale d'un aliment se fait majoritairement par le biais de l'olfaction orthonasale (et de la vision chez des animaux comme les primates et les oiseaux), la perception proximale résulte de l'interaction très étroite entre l'olfaction rétronasale et les systèmes gustatif, somatosensoriel et trigéminal (Frank & Byram, 1988) brièvement décrits ci-dessous :

- La **gustation** dans son acception stricte désigne la sensation naissant à la suite de la stimulation, par des molécules chimiques en solution, des seuls récepteurs gustatifs. Ces derniers sont localisés dans les bourgeons du goût situés au niveau de la langue (à 75 %) ou distribués sur le palais, le pharynx et la partie supérieure de l'œsophage. Le message gustatif est transmis par le nerf glossopharyngien (IX), la branche laryngée du nerf vague (X), les nerfs palatins ou la corde du tympan (VII). Ces influx nerveux convergent au niveau du tronc cérébral, dans le noyau du tractus solitaire (NTS) rostral qui projette sur le noyau parabrachial (NPB). Le NPB projette à son tour sur la zone parvicellulaire du noyau ventropostéromédian du thalamus (VPM). Le cortex gustatif primaire est défini comme la zone corticale recevant des fibres de projections directes du VPM. Il s'agit de la région recouvrant les divisions granulaire et disgranulaire du cortex insulaire (Yamamoto *et al.*, 1985 ; Ogawa *et al.*, 1990). Le cortex insulaire projette par la suite sur le cortex orbitofrontal (Baylis *et al.*, 1995). L'activation du système gustatif conduit à catégoriser classiquement le goût en 5 saveurs fondamentales : sucré, salé, acide, amer et umami (glutamate monosodique).
- Via l'exploration active de la nourriture (mastication, mouvements de langue...), le système **somesthésique** est lui aussi sollicité et apporte des renseignements sur la texture, la forme, la taille et la température des aliments (Cardello, 1996). Ces informations partent des récepteurs cutanés à bas seuil, sont transmises par le nerf V (trijumeau) et aboutissent après un relais thalamique au niveau du cortex somesthésique primaire (S1) et secondaire (S2) ; ce dernier comprend le sulcus ventral et le cortex insulaire (CIG et CID). Les cortex frontaux (COF et CPFm) reçoivent également des afférences somatosensorielles (Carmichael & Price, 1995).
- La sensibilité chimique **trigéminale** prend naissance suite à la stimulation des terminaisons libres des neurones nociceptifs polymodaux du nerf trijumeau. Ces informations convergent au niveau du cortex somesthésique et des aires corticales participant au traitement de la douleur et de l'irritation de la face. Les terminaisons libres sont distribuées dans toute la cavité nasale et buccale ; on en trouve également dans l'épithélium olfactif et les papilles gustatives. Elles sont activées par des substances chimiques classées comme irritantes (*e.g.* ammoniac, vinaigre, menthol…) et donnent lieu selon les molécules à des sensations de brûlure, de fraicheur, de picotements ou d'astringence (Laska *et al.*, 1997). Certaines substances ont la capacité

d'engendrer à la fois une perception trigéminale et gustative ou olfactive (*i.e.* d'activer les cellules gustatives ou les NRs olfactifs) ; cependant les concentrations liminaires auxquelles elles sont détectées par les chémocepteurs trigéminaux sont généralement très supérieures à celles qu'exigent le goût ou l'olfaction.

Selon Verhagen & Engelen (2006), le message brut élaboré au niveau de ces différents récepteurs sensoriels serait traité en trois étapes permettant d'aboutir à une perception consciente de l'aliment :

(i) une première étape (*extraction*) consisterait en l'élaboration d'une image distincte pour chacune des voies sensorielles concernées

(ii) une deuxième étape (*interaction*) serait caractérisée par la modulation de la qualité d'une image sensorielle par la présence d'autres stimuli ; par exemple, si l'on fait consommer à des sujets des hydrocolloïdes odorisés, l'intensité olfactive perçue diminue avec l'augmentation de la viscosité (Hollowood *et al.*, 2002). Les influences réciproques odeurs-goût représentent l'interaction la plus étudiée à l'heure actuelle (pour revues voir Prescott, 1999 ; Auvray & Spence, 2008). Une odeur peut en effet s'approprier les qualités perceptives d'un goût (*e.g.* les odeurs de vanille ou de fraise sont couramment qualifiées de 'sucrées') et à l'inverse moduler la perception du goût (une solution de quinine sera jugée moins amère si elle est couplée avec une odeur 'sucrée'). D'après Prescott *et al.* (2004), cet effet ne serait pas immédiat mais se construirait plutôt au fil des expériences alimentaires, pendant lesquelles le sujet rencontre régulièrement telle odeur appariée avec tel goût. Toutefois, pour ce qui nous concerne ici, les interactions odeur-goût ont lieu aussi bien pour des perceptions olfactives rétronasales qu'orthonasales (Verhagen & Engelen, 2006).

(iii) une troisième étape (*intégration*), favorisée par la congruence spatiale, temporelle et qualitative des stimuli, permettrait d'assembler ces images pour former une représentation unifiée de l'aliment mis bouche. Cette perception unifiée (gestalt) est définie sous le terme de **flaveur** (pour revues voir Small & Prescott, 2005 ; Verhagen & Engelen, 2006 ; Shepherd, 2006 ; Verhagen, 2007 ; Auvray & Spence, 2008). Le substrat anatomique central responsable de cette intégration multisensorielle n'est à l'heure actuelle pas complètement élucidé mais le cortex orbitofrontal a été proposé comme zone de convergence des informations olfactive, gustative, et tactile (Rolls & Baylis, 1994; Schul *et al.*, 1996; pour revues: Shepherd, 2006; Small *et al.*, 2007).

Pour certains auteurs, l'analyse synthétique (*i.e.* orientée vers l'ensemble) est inévitable et expliquerait l'illusion sensorielle très forte qui conduit les sujets à percevoir les odeurs

rétronasales comme des goûts (Murphy *et al.*, 1977, Murphy & Cain, 1980, Rozin, 1982, Burdach *et al.*, 1984) ou au contraire à avoir la sensation de perdre le goût lorsque la respiration rétronasale est bloquée (Heilmann *et al.*, 2002 ; Deems *et al.*, 1991). Pour d'autres auteurs (Prescott *et al.*, 2004 ; Auvray & Spence, 2008) la perception alimentaire peut néanmoins émerger d'une stratégie analytique (*i.e.* orientée vers chaque composant) en fonction de notre degré d'attention ou d'expertise (ce qui est le cas par exemple des dégustateurs cherchant à décrire en détail le profil aromatique d'un produit alimentaire).

Bien que l'influence des autres systèmes sensoriels sur l'olfaction soit à l'évidence un facteur non négligeable, des données récentes de la littérature (répertoriées ci-après) semblent indiquer qu'une différence de perception peut émerger d'une stimulation ortho- ou rétronasale même en l'absence des autres stimuli.

1.2.1. Comparaison au niveau neurophysiologique chez l'animal

L'accès des molécules odorantes à certaines zones de l'épithélium olfactif (et donc à certaines populations de NRs, voir section 1.1.2.1) peut se faire soit par un balayage antérograde des fosses nasales lors de l'inspiration (voie orthonasale), soit par un balayage rétrograde lors de l'expiration (voie rétronasale). Or, selon le modèle 'chromatographique' de l'olfaction proposé par Mozell (1964, 1966, 1970), la discrimination olfactive pourrait dépendre de la façon selon laquelle chaque molécule odorante va migrer et être adsorbée le long de la muqueuse olfactive. Dans le cas des deux stimulations ortho et rétronasale, une même molécule odorante ne va pas parcourir dans le même sens la muqueuse olfactive et pourrait donc selon ce principe produire des patrons d'activation spatiale et temporelle différents dès la périphérie du système olfactif, ce qui pourrait aboutir à une perception différente. Cette théorie n'a pour l'instant pas été démontrée de manière expérimentale. On recense de fait très peu de recherches portant sur l'olfaction rétronasale chez l'animal (souris : Coppola *et al.*, 1994; rat : Slotnick *et al.*, 1997 ; Scott *et al.*, 2007) et à notre connaissance, seule l'étude de Scott *et al.* (2007) a directement comparé les réponses neurophysiologiques d'une odeur présentée de façon ortho- ou rétronasale. Les auteurs ont effectué des enregistrements électrophysiologiques au niveau de l'épithélium olfactif et du BO, chez le rat anesthésié et trachéotomisé. Une série d'odorants, très hydrophobes (comme le methyl benzoate) très hydrophiles (comme le vinyl cyclohexane) ou de solubilité intermédiaire (comme l'acétate d'isoamyle), ont été délivrés soit orthonasalement par un tube envoyant l'air odorisé à l'entrée des narines soit rétronasalement via la canule de trachéotomie.

La concentration d'odorant délivrée à proximité de l'épithélium est égalisée pour les deux stimulations. L'enregistrement de l'électro-olfactogramme (EOG) à la surface de l'épithélium olfactif permet une mesure directe de la réponse populationelle des NRs à l'odeur. Les résultats montrent que la réponse EOG présente une amplitude plus faible et une latence plus longue pour la stimulation rétronasale dans le cas d'odorants hydrophiles et intermédiaires. Elle est en revanche d'amplitude et de latence similaires à la stimulation orthonasale pour les composés hydrophobes. Ces résultats sont plus ou moins prononcés selon la localisation spatiale de l'électrode d'enregistrement sur l'épithélium. D'autre part, l'activité multiunitaire du BO enregistrée au niveau des couches d'entrée (couche des nerfs et couche glomérulaire) corrobore les données obtenues au niveau de l'épithélium, à savoir une réponse globalement plus faible pour la stimulation rétronasale mais dépendante de la nature chimique de l'odorant.

1.2.2. Etudes psychophysiques chez l'Homme

Depuis une dizaine d'années, des études se sont attachées à comparer de manière directe, chez l'Homme, les caractéristiques perceptuelles associées à la présentation orthonasale ou rétronasale d'une source odorante, tant à un niveau qualitatif (identification, hédonicité, localisation) que quantitatif (intensité). Cet intérêt récent s'explique en partie par la difficulté à maîtriser la délivrance du stimulus olfactif, notamment pour ce qui concerne la voie rétronasale.

Deux grands types de méthodologies ont été employés pour produire une stimulation rétronasale; la première consiste à donner à boire au sujet un liquide odorisé (*e.g.* Burdach & Doty, 1987 ; Cerf-Ducastel *et al.*, 2001). Cette stimulation mime au mieux les circonstances naturelles de la prise alimentaire ; elle s'accompagne en revanche de stimulations tactiles de la cavité buccale et, selon la nature du liquide, de stimulations gustatives et trigéminales. La seconde méthode consiste à présenter l'odorant en phase gazeuse, soit à l'aide d'un petit container déposé au fond de la bouche (Pierce & Halpern, 1996) soit de manière plus invasive à l'aide d'un tube introduit par la narine jusqu'au fond du palais (voir Figure 5) (Heilmann & Hummel, 2004 ; Hummel *et al.*, 2006 ; Small *et al.*, 2005 ; Frasnelli *et al.*, 2008). A l'heure actuelle, cette dernière méthode est préférentiellement utilisée car elle permet de contrôler que la concentration et la nature des odorants atteignant l'épithélium olfactif par voie ortho- ou rétronasale sont rigoureusement les mêmes. Les résultats montrent que le seuil de détection d'un même odorant est plus bas quand il est présenté par voie orthonasale (Heilmann & Hummel,

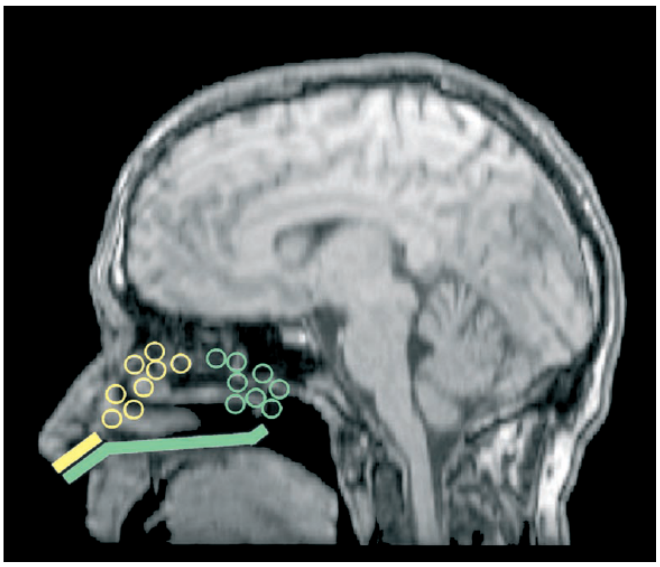


Figure 5. Représentation schématique du dispositif de stimulations olfactives ortho- et rétronasale développé par Heilmann & Hummel (2004) (cliché adapté de Hummel, 2008). Pour la stimulation rétronasale, les odorants sont libérés au niveau de l'épipharynx via un tube inséré (par endoscopie) jusqu'au fond du palais (en vert). Pour la stimulation orthonasale, l'extrémité d'un autre tube est placée à l'entrée de la cavité nasale (en jaune). Chacun des tubes est relié à un olfactomètre permettant la délivrance des composés odorants. Des flux d'airs constants maintiennent une stimulation somatosensorielle basale de la cavité nasale. Les sujets devant respirer par la bouche, la fermeture velopharyngée assure l'absence de diffusion de l'air expiré dans la cavité nasale. Le début de la stimulation olfactive est délivré aléatoirement, c'est à dire n'est pas synchronisé avec une phase particulière du rythme respiratoire du sujet.

2004). L'intensité de la stimulation olfactive est également jugée plus faible pour la voie rétronasale que pour la voie orthonasale (Heilmann & Hummel, 2004 ; Small *et al.*, 2005). Enfin, l'identification de l'odorant est rapportée comme plus difficile s'il est présenté en rétronasal (Pierce & Halpern 1996). De manière générale, ces données suggèrent que les sujets ont de meilleures performances olfactives lorsque les odorants leur sont présentés par voie orthonasale. Cependant, ces résultats dépendent grandement de la qualité 'alimentaire' (*e.g.* chocolat, vanille, curry, fromage...) ou 'non alimentaire' (*e.g.* parfum, lavande, cuir, herbe....) de l'odeur, c'est-à-dire du contexte dans lequel le sujet a l'habitude de rencontrer l'odorant (Small et al ., 2001). Ainsi, Small *et al.* (2005) ont montré que les odeurs 'non alimentaires' étaient effectivement jugées plus intenses lorsqu'elles sont présentées en orthonasal, alors que les odeurs 'alimentaires' étaient jugées d'égale intensité quelque soit leur mode de délivrance. De même, dans l'étude de Frasnelli *et al.* (2008), certaines odeurs 'non alimentaires' sont jugées comme moins plaisantes lorsqu'elles sont présentée par voie rétronasale par rapport à la voie orthonasale, alors qu'aucune différence n'a été mesurée pour les odeurs 'alimentaires'. L'ordre dans lequel les odorants sont présentés (d'abord ortho- puis rétro- ou inversement) peut également modifier les capacités d'identification des sujets (Sun & Halpern, 2005).

Il est intéressant de constater la capacité des sujets à déterminer si l'odeur leur a été présenté de manière orthonasale ou rétronasale (Heilmann & Hummel, 2004 ; Small *et al.*, 2005 ; Frasnelli *et al.*, 2008). Plus précisément, les sujets sont capables de préciser s'ils perçoivent les odorants comme provenant de l'avant de la cavité nasale ou plutôt de l'arrière des cavités nasale ou buccale. Grâce au dispositif (voir figure 4) on sait que cette 'localisation' du site de stimulation olfactive ne dépend pas d'informations somatosensorielles, mais elle peut par contre être facilitée grâce aux indices apportés par le système trigéminal dont les récepteurs sont distribués dans l'ensemble de la cavité nasale et buccale (certains odorants ayant en effet la capacité de l'activer, voir section 1.2.2.) (Frasnelli *et al.*, 2008). Cependant, même en utilisant des odorants purement olfactifs (c'est-à-dire n'activant pas le système trigéminal) et d'égale intensité, les sujets montrent toujours de bonnes performances de localisation (Small *et al.*, 2005).

1.2.3. Comparaison au niveau neurophysiologique chez l'Homme

Parallèlement aux différences perceptives rapportées ci-dessus, l'enregistrement au niveau du scalp des potentiels évoqués (ERP) par une stimulation olfactive ortho- ou rétronasale

montre une amplitude plus faible de la réponse à la stimulation rétronasale (Heilmann & Hummel, 2004). Les latences d'apparition des ondes N1 et P2 sont également plus longues pour la stimulation rétronasale. Les auteurs corrèlent ces observations avec le fait que les sujets détectent plus rapidement l'odeur lorsqu'elle est présentée orthonasalement (voir section précédente). Toutefois, une interaction existe entre la nature de l'odeur et la façon dont elle est présentée (Hummel & Heilmann, 2008). En effet, une odeur 'non alimentaire' présentée en rétronasal induit des ERPs de plus forte amplitude comparée à sa présentation orthonasale. L'effet inverse est observé pour une odeur alimentaire. Ces résultats suggèrent que le traitement cérébral du stimulus olfactif comprend à la fois l'analyse de la voie de stimulation (ortho- ou rétronasale) et de la congruence de cette présentation avec le contexte habituel dans lequel le sujet rencontre l'odeur.

Une étude d'imagerie fonctionnelle chez l'Homme (Small *et al.*, 2005) a mis à jour les régions cérébrales s'activant suite à la délivrance ortho- ou rétronasale d'une même odeur. Comme on peut s'y attendre, les deux stimulations produisent des patrons d'activation largement recouvrants dans des régions comme le cortex piriforme ou le cortex orbitofrontal. Cependant, certaines régions présentent des niveaux d'activation supérieurs pour une des deux conditions de stimulation. Ainsi, le Sulcus Central présente une activation supérieure pour la stimulation rétronasale ; cette région répond classiquement chez l'Homme à la stimulation somatosensorielle de la cavité orale. Selon les auteurs, son activation concorderait donc bien avec le fait que les sujets ont la sensation que la stimulation olfactive rétronasale provient de la bouche (cf 1.1.3.1.), même si, on le rappelle, aucun indice somatosensoriel ne leur permet d'en décider. Ce résultat est reproduit pour toutes les odeurs, qu'elles soient ou non jugées de qualité alimentaire pour le sujet. En revanche pour d'autres régions cérébrales, on observe un effet de l'interaction entre la qualité de l'odeur et son mode de présentation. Une odeur 'alimentaire' produit un patron d'activation différent selon qu'elle est présenté ortho- ou rétronasalement: présentée en orthonasal, elle active davantage le thalamus, le cortex orbitofrontal droit, l'hippocampe droit, l'amygdale, le cortex insulaire ; à l'inverse, présentée en rétronasal, elle sollicite davantage le cortex orbitofrontal médian, le cortex cingulaire et le gyrus temporal. En revanche, les auteurs n'observent pas de dissociation similaire pour les odeurs 'non alimentaires' (butanol, lavande).

En résumé, les travaux menés tant chez l'animal que chez l'Homme apportent des preuves expérimentales en faveur de la proposition de Rozin (1982) : il apparait possible de discriminer un odorant selon qu'il est présenté de manière ortho- ou rétronasale.

Les résultats suggèrent aussi que la perception des sujets est naturellement influencée par la dimension ‘alimentaire’ qu’ils confèrent aux odeurs, c'est-à-dire par les configurations sensorielles qu’ils ont rencontrées au cours de leurs précédentes expériences. En effet, la représentation neuronale d’un objet n’est pas seulement dépendante des caractéristiques physiques du stimulus, elle est également influencée par des processus cognitifs. Les résultats de ces études renforcent donc l’idée qu’un stimulus donné peut-être représenté de façon différente en fonction du type d’expérience que l’individu en a fait. Ceci nous amène au deuxième chapitre de cette introduction portant plus spécifiquement sur les apprentissages alimentaires.

Chapitre 2. Aspects comportementaux et neurobiologiques des apprentissages alimentaires aversifs

2.1. Les modèles d'aversions alimentaires conditionnées chez le rongeur

2.1.1. Caractéristiques générales

Comme nous l'avons introduit en préambule, un comportement alimentaire adapté nécessite des capacités d'apprentissage et d'association. En effet, l'animal doit pouvoir relier les caractéristiques sensorielles de l'aliment (goût, odeur, apparence, texture, cf. Chapitre 1) aux conséquences de son ingestion (bénéfiques dans le cas d'un apport énergétique, ou négatives si la consommation est suivie d'un malaise gastrique) pour ensuite avoir la possibilité de reconnaître cet aliment et produire un comportement adapté (consommation ou évitement). De ce point de vue, les aversions alimentaires constituent un système efficace pour la survie. Elles peuvent se développer chez quasiment toutes les espèces animales, depuis les invertébrés comme la limace (Gelperin, 1975) ou les petits mammifères tels que les rongeurs (Nowlis *et al.*, 1980) jusqu'aux espèces les plus évoluées incluant l'Homme (Bernstein, 1999) (pour revue voir Royet, 1983).

L'aversion alimentaire conditionnée chez le rat constitue aujourd'hui un des modèles les plus utilisés en laboratoire pour étudier ce type de comportement (pour revue voir Royet, 1983). Il s'agit d'un conditionnement de type Pavlovien qui consiste lors d'une phase de conditionnement à présenter à l'animal un aliment ou une boisson (stimulus conditionnel = SC) identifiable par ses caractéristiques sensorielles, et à faire suivre sa consommation d'un malaise gastrique provoqué par une injection intrapéritonéale de chlorure de lithium (=LiCl) (stimulus inconditionnel = SI). Lors du test de rappel, l'association effective entre le SC et le SI se traduit par la manifestation d'une réponse conditionnée (RC) d'aversion, c'est-à-dire une baisse, voire une absence, de consommation de la substance lorsqu'elle est à nouveau présentée. L'aversion alimentaire est un apprentissage très rapide (une seule association entre l'aliment et le malaise

suffit à induire une aversion) et très robuste (certaines aversions peuvent durer toute une vie) (pour revue voir Chambers & Bernstein, 2003).

Outre l'influence de la qualité du SC (*i.e.* les caractéristiques sensorielles mises en jeu) qui fera l'objet d'une analyse détaillée en 2.1.2., trois paramètres généraux vont déterminer la force de l'aversion:

- *La nouveauté du SC* : plus l'aliment sera familier et plus les expériences d'ingestion passées (sans conséquences négatives pour l'animal) vont empêcher l'association de cette nourriture avec le malaise: il s'agit du phénomène d'inhibition latente décrit par Lubow & Moore (1959).
- *L'intensité du SI* : une faible intoxication conduit à une aversion moins importante qu'une forte intoxication (Miranda *et al.*, 2002).
- *Le délai SC-SI* : une caractéristique remarquable de cet apprentissage aversif est qu'il supporte un délai important entre la consommation du nouvel aliment et l'apparition des symptômes du malaise gastrique (Garcia *et al.*, 1966). Il constitue en cela une exception au principe de Pavlov (1927) qui exige normalement une contiguïté temporelle stricte entre la présentation du SC et celle du SI (comme c'est le cas par exemple pour les conditionnements de peur où le son doit être immédiatement (dans une fenêtre de temps comprise entre 500ms et 2s) suivi du choc électrique, pour revue voir Ledoux, 2000). Cependant, en conditions naturelles ce délai représente la séparation temporelle physiologique existant entre l'ingestion (moment où les caractéristiques sensorielles de l'aliment sont perçues) et la digestion (pendant laquelle le caractère toxique de l'aliment est perçu). Il est ainsi possible d'induire des aversions avec des délais très importants (de deux à six heures) entre la présentation du SC et le SI (Garcia & Holder, 1985). Toutefois, l'amplitude de l'aversion dépend de la durée de l'intervalle SC-SI : un malaise arrivant dans l'heure qui suit l'ingestion provoque une aversion plus importante qu'un malaise similaire apparaissant quatre heures après l'ingestion. De plus, au-delà d'une certaine période après l'ingestion (en général après 7 ou 8 heures), même si le malaise se produit il n'est plus associé à l'aliment consommé et ne provoque plus d'aversion.

Le développement d'une aversion alimentaire peut se décomposer en une succession de processus neurobiologiques bien identifiés et décrits par Bures & Buresova (1990) (voir Figure 6). L'**acquisition** correspond *(i)* au traitement perceptif des caractéristiques sensorielles de l'aliment (étape présentée dans le chapitre 1 du manuscrit) *(ii)* à la formation d'une trace mnésique à court terme de la représentation des caractéristiques sensorielles de l'aliment *(iii)* au traitement du message sensoriel viscéral (le malaise gastrique) et *(iv)* à la création d'un lien

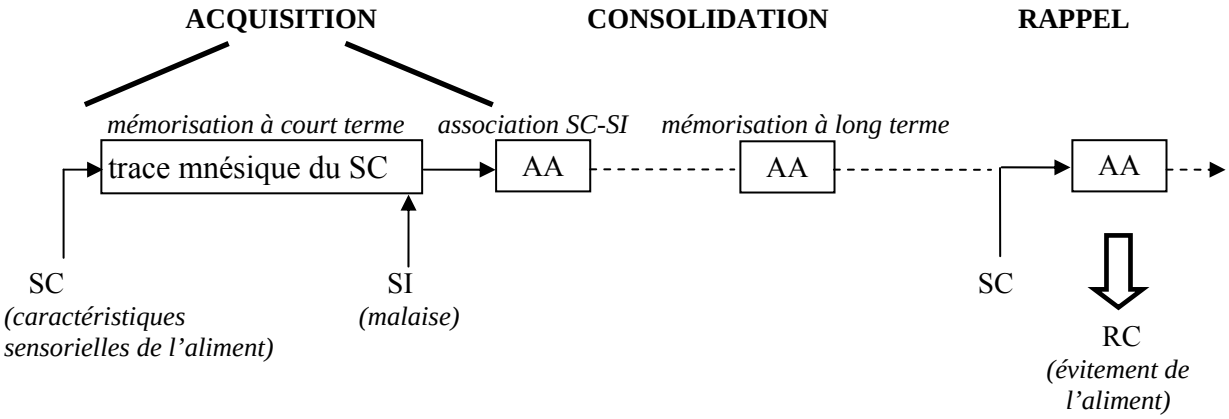


Figure 6. Représentation schématique des différents processus à la base de l'aversion alimentaire (AA) décrits par Bures & Buresova (1990). (Modifié d'après Ferry, 1997).

associatif entre la trace mnésique des caractéristiques sensorielles de l'aliment et le malaise, lui assignant une valeur négative. La phase de **consolidation** *(v)* permet le stockage en mémoire à long terme de l'association SC-SI. Enfin *(vi)* la présentation ultérieure du SC conduit au **rappel** de l'association SC-SI. Il est indispensable que tous ces processus soient correctement accomplis pour que la réponse conditionnée d'aversion alimentaire puisse s'exprimer. Lorsque c'est le cas, il faut en général plusieurs jours d'**extinction**, *i.e.* de présentations successives du SC non suivies du SI (Berman & Dudai, 2001), pour que le rat retrouve le niveau de consommation de la nourriture précédant le conditionnement. Avant d'aborder les hypothèses concernant les structures cérébrales impliquées dans chacune de ces différentes étapes, il convient de préciser la nature des informations sensorielles mis en jeu dans l'apprentissage.

2.1.2. Importance de la modalité sensorielle mise en jeu comme SC

Les travaux de Garcia *et al.* (Garcia & Koelling, 1966 ; Garcia *et al.*, 1968 ; Hankins *et al.*, 1973 ; Rusiniak *et al.*, 1979 ; Palmerino *et al.*, 1980) ont très tôt permis d'établir que toutes les caractéristiques sensorielles de l'aliment ne sont pas associées avec la même facilité au malaise gastrique. Ces auteurs ont en effet observé qu'il était plus facile d'induire une aversion pour une boisson présentant un goût que pour de l'eau associée à des stimuli visuel ou auditif. En particulier, il est possible d'induire une aversion gustative conditionnée (AGC) en un seul appariement goût-malaise, et ce même si un délai de plusieurs heures séparait le SC du SI. En revanche l'application d'un choc électrique sur les pattes de l'animal suite à l'ingestion d'une solution sapide n'engendre pas d'aversion alimentaire (ou très difficilement après de nombreuses associations entre le goût et le choc). De ces résultats, Garcia *et al.* ont déduit que tous les SC ne pouvaient être associés de manière efficace à des SI aversifs quelconques ; ils ont émis l'hypothèse que l'évolution ait doté les animaux de deux systèmes de défense: un système de défense *interne* permettant qu'une douleur liée à l'activation des récepteurs nociceptifs viscéraux soit aisément associée aux indices gustatifs perçus pendant l'ingestion de la nourriture, et un système de défense *externe* permettant que la stimulation des récepteurs nociceptifs cutanés (*e.g.* par la morsure d'un prédateur) soit facilement associé à des stimuli audiovisuels (caractérisant le prédateur).

On le comprend, ceci explique pourquoi le goût a longtemps été considéré comme le SC privilégié de l'aversion alimentaire. De par ses caractéristiques remarquables (pour revues : Yamamoto *et al.*, 1994 ; Welzl *et al.*, 2001), l'AGC est devenue l'un des modèles d'apprentissage associatif les plus utilisés dans le domaine de la neurobiologie de la mémoire (plus de 400 références recensées dans le domaine sur PubMed. en décembre 2008).

Qu'en est-il de l'odeur ?

Dans leurs expériences initiales, Hankins *et al.* (1973) disposent un papier filtre odorisé à la menthe poivrée autour du tube de boisson contenant de l'eau (lorsque les animaux viennent s'abreuver leur nez est à proximité de l'odeur) ; ils constatent qu'il est nécessaire de répéter sur plusieurs jours l'appariement odeur-malaise pour qu'une aversion olfactive conditionnée (AOC) s'établisse. Ils constatent aussi qu'un délai SC-SI supérieur à 10 min empêche tout apprentissage. L'expérience est reproduite avec différentes odeurs par d'autres équipes (Rusiniak *et al.*, 1982 ; Ferry *et al.*, 1996). L'évitement d'un stimulus olfactif préalablement associé à un choc électrique pouvant, en revanche, être facilement obtenu, les auteurs en concluent que l'olfaction serait (comme la vision ou l'audition) un stimulus de moindre importance que le goût dans l'établissement des aversions alimentaires. Ce principe n'a été clairement remis en cause que 30 ans plus tard par Slotnick *et al.* (1997). Ces auteurs soulignent que la méthode utilisée par Hankins *et al.* (1973) pour exposer l'animal à l'odeur n'est que pour moitié représentative des stimulations olfactives d'une prise alimentaire naturelle. En présentant l'odeur à proximité de l'eau de boisson, on recrée effectivement les stimulations olfactives orthonasales (*i.e.* distales) associées à l'aliment mais pas la composante rétronasale pourtant naturellement présente lors de l'ingestion (cf chapitre 1). Pour Slotnick *et al.*, une odeur ne peut être un SC d'efficacité équivalente au goût qu'à la condition qu'elle représente, au même titre que ce dernier, un stimulus proximal pour l'animal, *i.e.* distinctif de *l'ingestion*. Pour mettre à l'épreuve cette hypothèse, les auteurs ont utilisé cette fois une boisson odorisée (odeur en solution dans l'eau) à des concentrations ne conférant pas à la solution de propriétés gustatives qui puissent être perçues par le rat. Pour se faire, ils ont préalablement montré que des rats rendus anosmiques (par aspiration du bulbe olfactif) n'étaient pas capables de discriminer de l'eau pure et de l'eau dans laquelle était dilué l'odorant (l'acétate d'isoamyle). Ils démontrent ainsi que le système gustatif (et sans doute le système trigéminal) restés intacts ne sont pas sollicités lors de l'ingestion de la boisson odorisée. Par la suite, lorsqu'ils ont utilisé cette boisson odorisée comme SC de l'aversion, Slotnick *et al.* ont obtenu une AOC d'amplitude comparable à celle d'une AGC induite avec de l'eau sucrée. En outre, il leur a été possible d'introduire un intervalle de plusieurs heures entre la consommation de cette solution odorisée et

le malaise sans que cela n'altère l'apprentissage. Ceci suggère que la trace de l'odeur perçue de manière rétronasale peut, au même titre que ses caractéristiques gustatives, être gardée en mémoire suffisamment longtemps pour être associée à un malaise gastrique différé. Desgranges *et al.* (2009) ont depuis confirmé qu'une AOC réalisée en condition 'odeur ingérée' peut être obtenue, comme l'AGC, en un seul appariement SC-SI, avec de longs délais SC-SI, et être toujours aussi puissante si l'animal est testé, non pas deux jours, mais plus d'un mois après avoir été malade.

Il existe peu de données concernant le système somatosensoriel, cependant il semble que ces indices puissent être aussi spécifiquement et efficacement associés au malaise gastrique. En effet, les travaux de Sako *et al.* (2004) montrent que si l'on utilise comme SC une solution aqueuse caractérisée par sa température (tiède), les rats éviteront le jour du test la solution tiède et préféreront consommer à la place la même solution froide. Des animaux témoins (n'ayant pas subi de malaise gastrique) consomment indifféremment les deux solutions. Par ailleurs, les travaux de Ramirez (1992) montrent que les rats sont capables de développer des aversions spécifiques pour des substances identifiables par leur viscosité, et ce même si le malaise a lieu 1 h après la consommation.

En attente de preuves expérimentales additionnelles, il semble donc que l'hypothèse initiale de Garcia *et al.* (1966) concernant la facilité d'association des stimuli gustatifs avec le message viscéral nociceptif puisse être étendue à tous les indices proximaux de la nourriture en général (voir aussi Mackintosh, 1983). On peut cependant ajouter, d'un point de vue écologique, qu'il reste néanmoins crucial que l'animal ait la capacité de reconnaître l'aliment sur la base de ses caractéristiques distales, sans avoir à le consommer et donc risquer de fait un nouveau malaise. Les expériences décrites dans le paragraphe ont spécifiquement adressé cette question.

Dans les années 1980, des études ont montré que les rats pouvaient développer de fortes aversions à l'indice olfactif distal si, lors du conditionnement, le SC se présentait sous la forme d'un stimulus composite (de l'anglais 'compound stimulus') odeur+goût (Palmerino *et al.*, 1980 ; Rusiniak *et al.*, 1982, Bouton *et al.*, 1986) ; dans ces conditions les auteurs ont montré que la présence d'un long délai SC-SI n'était plus préjudiciable à l'établissement de l'aversion olfactive. Ce phénomène de facilitation de l'apprentissage d'aversion à l'odeur a reçu le nom de 'taste potentiated odor aversion' ou aversion olfactive potentialisée par le goût (AOPG). Une AOPG ne peut se produire qu'en condition de congruence spatiale et temporelle des stimuli olfactif et gustatif : l'odeur ne doit pas être diffuse dans la chambre expérimentale mais localisée

au plus près de la boisson sapide comme c'est bien sûr le cas pour une source alimentaire naturelle (Bouton *et al.*, 1986 ; Coburn *et al.*, 1984 ; Holder & Garcia 1987).

Divers modèles ont été proposés pour tenter d'expliquer les mécanismes mis en jeu dans la situation expérimentale conduisant à l'AOPG (pour revue voir Batsell & Blankenship, 2002). Dans le modèle écologique de la porte sensorielle (ou 'sensory and gate channeling model'), Garcia *et al.* (1985) proposent que**,** lors de l'ingestion d'un nouvel aliment, la présence du goût faciliterait l'intégration de l'odeur (distale) dans le système de défense interne.

Dans le modèle théorique du 'whithin-compound association' (association intra-composite) de Durlarch & Rescorla (1980), la potentialisation s'expliquerait par la formation de trois associations lors du conditionnement: une association goût-odeur distale, une association goût-malaise (forte) et une association odeur distale-malaise (faible en cas de long délai). Lors du test, la présentation de l'odeur distale pourrait ainsi rappeler le malaise soit directement en réactivant la trace de l'association odeur-malaise, soit indirectement en réactivant la trace des associations odeur-goût puis goût-malaise.

Enfin, dans la théorie de l'association configurale proposée par Kucharski & Spear (1985), l'organisme ne percevrait pas l'odeur et le goût comme les éléments séparés d'un stimulus composite mais comme une troisième entité, plus saillante. Durant le test, l'animal confondrait l'odeur présentée seule avec ce stimulus saillant et développerait ainsi une aversion forte.

A l'heure actuelle, la théorie de l'association intra-composite est celle qui a reçu le plus de support d'un point de vue expérimental (pour revue Batsell & Blankenship, 2002).

Dans une première série d'expérience, après avoir permis l'association du composé odeur+goût avec le malaise, l'extinction de l'aversion au goût seul (*post-conditioning taste extinction*) est effectuée. Si la théorie de l'association intra-composite est vérifiée, ce traitement devrait en effet conduire à une plus faible aversion à l'odeur le jour du test de rappel en supprimant la contribution de l'association indirecte odeur-(goût)-malaise. Cette observation a effectivement été vérifiée dans différents travaux (Westbrook *et al.*, 1983 ; Batsell *et al.*, 2001 ; Trost & Batsell 2004).

Inversement, si au lieu d'éteindre l'aversion au goût après le conditionnement, un renforcement de cette aversion est réalisé en faisant suivre la présentation du goût seul par un nouveau malaise (*post-conditioning taste inflation*), une plus forte aversion à l'odeur devrait cette fois être observée. Ceci a été effectivement été démontré par Batsell *et al.* en 2003. L'ensemble de ces résultats soutiennent donc l'existence des différentes associations proposées dans la théorie de Durlarch & Rescorla (1980). Toutefois, il est à noter que la présence d'associations intra-

composites a également été révélée dans une situation ne mettant pas forcément en jeu une potentialisation de l'odeur par le goût, dans le cas de délais SC-SI très courts par exemple. (Schnelker & Batsell, 2006).

2.2. Substrat neurobiologique des aversions alimentaires

Pour les raisons évoquées précédemment, la majorité des études portant sur le substrat neuronal des aversions alimentaires ont recherché les structures cérébrales impliquées dans l'aversion gustative conditionnée ; la question a déjà fait l'objet d'un certain nombre de revues (Yamamoto *et al.*, 1994 ; Welzl *et al.*, 2001 ; Bermudez-Rattoni, 2004 ; Ferreira, 2004 ; Reilly & Bornovalova, 2005) dont nous résumerons dans le paragraphe qui suit les points clé et les dernières avancées. Concernant l'aversion olfactive, les données disponibles concernent quasi-exclusivement des protocoles utilisant la seule présentation distale de l'odeur ou associant l'odeur et le goût (potentialisation). Pour chaque type d'aversion (gustative ou olfactive), nous nous référerons aux étapes du modèle de Bures & Buresova (1990) décrit précédemment (Figure 6 p. 47) pour préciser à quel moment précis de l'apprentissage la structure considérée serait impliquée.

2.2.1. Les circuits neuronaux de l'aversion gustative

2.2.1.1. Les noyaux du tronc cérébral : sites de convergence naturels du SC et du SI

L'injection intrapéritonéale de LiCl produit chez le rat les symptômes typiques d'une intoxication alimentaire, comme des crampes abdominales ou des diarrhées (Nachman, 1970), dus à l'activation des nerfs splanchnique (sympathique) et vague (parasympathique). L'information viscérale nociceptive est véhiculée jusqu'au noyau du tractus solitaire (NTS) caudal puis au noyau parabrachial (NPB). Ce dernier projette massivement (de manière directe ou via le noyau médian du thalamus) sur le noyau central et le complexe basolatéral de l'amygdale, et également sur le cortex insulaire granulaire et disgranulaire. Le LiCl peut également atteindre le système nerveux central par voie sanguine, via l'area postrema qui projette à son tour sur le NTS. Le marquage cérébral du transcrit du gène d'activation fos

effectué à différents temps suite à l'injection de LiCl montre un pic d'activité entre 20 min et 1 heure après l'injection et un retour à un niveau basal 3 heures après l'injection (Spencer & Houpt, 2001). Sur la base des données anatomiques résumées Figure 7, Garcia & Ervin (1968) ont suggéré que la convergence rapide (dès le tronc cérébral) des projections gustatives et viscérales était à l'origine de la prédisposition des stimulations gustatives à être associées à un malaise gastrique. En effet, l'intégrité du NPB est nécessaire au processus d'acquisition de l'AGC, incluant la détection du SC (goût) et du SI (malaise), ainsi que leur association (pour revue Reilly, 1999). Toutefois, Grill & Norgren (1978) ont montré que les rats décérébrés au niveau supracolliculaire (isolant ainsi le tronc cérébral de toutes connexions télencéphaliques) ne peuvent développer d'aversion gustative. Les structures du tronc cérébral ne suffisent donc pas à cet apprentissage aversif, soulignant ainsi l'importance des structures télencéphaliques, en particulier le cortex insulaire et l'amygdale.

2.2.1.2. Le cortex insulaire

L'intégrité du Cortex Insulaire (CI) n'est pas nécessaire à la détection et à la catégorisation de stimuli gustatif, et notamment aux préférences innées pour les goûts sucrés et salés et aux aversions spontanées pour les goûts amers et acides (pour revue Braun *et al.*, 1982). En revanche, de nombreuses données de la littérature précisent que le CI gustatif (c'est-à-dire la région recouvrant les zones granulaire et dysgranulaire, voir point 1.1.2.3.) est impliqué dans toutes les étapes conduisant à la formation d'une mémoire gustative aversive et à l'expression d'une AGC. Une libération d'acétylcholine est observée dans le CI lors de la présentation d'un goût nouveau mais pas d'un goût familier (Miranda *et al.*, 2000). D'autres auteurs ont montré que l'activation des récepteurs cholinergiques muscariniques du CI est indispensable à la formation de la trace mnésique du goût (Ferreira *et al.*, 2002). Le malaise gastrique active lui aussi la libération de glutamate dans le CI (Miranda *et al.*, 2002) et le dialogue qui s'établit entre l'amygdale et le CI est important pour la formation de l'association goût-malaise (voir point 2.3.1.3. ci-après). Le blocage de la synthèse protéique dans le CI perturbe la consolidation de l'AGC (Rosenblum *et al.*, 1993 ; Berman & Dudai, 2001, Berman *et al.*, 2003, Desgranges *et al.*, 2009). Enfin son inactivation empêche le rappel de l'AGC, que celui-ci ait lieu deux jours (Gallo *et al.*, 1992) ou plus d'un mois (Desgranges *et al.*, 2009) après le conditionnement. Les travaux d'enregistrements électrophysiologiques unitaires chez l'animal vigile réalisé par Yasoshima *et al.* (1998) et plus récemment par Grossman *et al.* (2008) montrent en effet un changement d'excitabilité des neurones du CI en réponse au goût lors du rappel d'une AGC. En

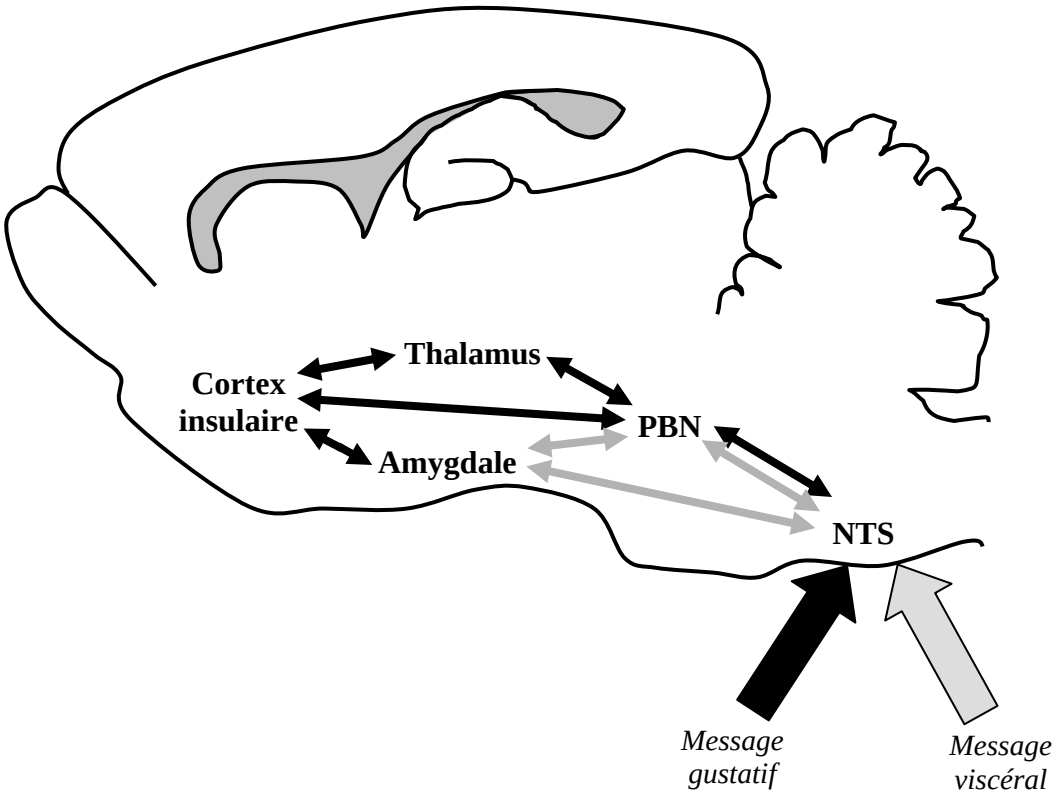


Figure 7. Schéma simplifié des principales projections et structures cérébrales impliquées dans l'aversion gustative. (D'après Ferreira, 2004). Chez le rat, le message gustatif et le message viscéral activent différentes parties du noyau du tractus solitaire (NTS) qui projettent sur différentes parties du noyau parabrachial (PBN). Ensuite le message gustatif rejoint le cortex insulaire directement ou via un relais thalamique. Les informations gustatives rejoignent également l'amygdale via le thalamus ou le cortex insulaire. L'amygdale reçoit également les informations viscérales en provenance du NTS et du PBN. De plus l'amygdale et le cortex insulaire sont en contact permanent grâce à d'importantes connexions réciproques.

particulier, les changements concernent spécifiquement la réponse tardive des neurones du CI (entre 0.8 et 1 s après l'administration du goût) connue pour coder la palatabilité du stimulus gustatif, et non pas la réponse précoce (codant sa qualité).

2.2.1.3. L'amygdale

Depuis les années 80, de nombreux travaux se sont intéressées au rôle de l'amygdale dans l'AGC, en se focalisant en particulier sur le noyau central (Ce) et le complexe basolatéral (BLA). Toutefois, on peut noter qu'en fonction du type d'approche utilisée (lésion permanente plus ou moins étendue, blocage réversible à différents moments de l'apprentissage…), ces études ont parfois apporté des résultats contradictoires (voir pour revue Reilly & Bornovalova, 2005).

L'inactivation réversible du BLA après la consommation d'un goût nouveau et avant l'intoxication perturbe l'acquisition de l'aversion gustative (Gallo *et al.*, 1992) suggérant un rôle fonctionnel de cette structure dans les étapes permettant la formation d'une trace mnésique gustative ; en particulier, les travaux de Miranda *et al.* (2003) mettent en avant le rôle de l'innervation noradrénergique du BLA dans ce processus. Par ailleurs, le BLA semble spécifiquement impliqué dans le traitement des informations viscérales ; l'injection d'une forte dose de LiCl induit en effet une libération de glutamate dans le BLA (Miranda *et al.*, 2002) alors qu'une faible dose n'en induit pas. D'ailleurs, une faible aversion gustative (induite par une faible dose de LiCl) peut être potentialisée par la microinjection de glutamate directement dans l'amygdale (Miranda *et al.*, 2002). L'ensemble de ces travaux souligne donc l'implication de l'amygdale dans les processus d'acquisition de l'AGC. Par ailleurs, le blocage de la synthèse protéique dans l'amygdale centrale empêche la formation d'une AGC (Lamprecht *et al.*, 1997 ; Bahar *et al.* 2003) indiquant également son importance dans la consolidation de l'apprentissage. Enfin, le blocage des récepteurs glutamatergiques AMPA de l'amygdale perturbe le rappel de l'AGC (Yasoshima *et al.*, 2000). Ces résultats sont corroborés par les travaux de Yasoshima *et al.* (1995) et de Grossman *et al.* (2008) qui montrent que les réponses neuronales de l'amygdale au stimulus gustatif sont modifiées après une AGC.

Tout comme le cortex insulaire, l'amygdale semble donc engagée dans les différentes phases de l'AGC, par la mise en jeu de différents substrats neurochimiques; les études résumées dans le paragraphe suivant montrent que le dialogue qui s'établit entre ces deux structures pourrait être de première importance dans la formation et l'expression de la mémoire gustative aversive.

2.2.1.4. Interactions amygdalo-corticales

L'amygdale et le cortex insulaire sont directement et densément interconnectés (Krettek & Price, 1977 ; Shi & Cassel, 1998). Une série de travaux menés principalement par le groupe de F. Bermudez-Rattoni ont permis de mettre à jour une communication entre ces deux structures impliquée de manière fonctionnelle dans la mise en place de l'association du goût et du malaise gastrique au cours de l'AGC. Nous avons vu précédemment l'importance du CI dans la détection et la mémorisation du goût et celle du BLA dans le traitement du malaise gastrique. Or, la stimulation tétanique des fibres de projection du BLA sur le CI conduit d'une part à la potentialisation des réponses synaptiques du CI (Escobar *et al.*, 1998a) et d'autre part, au niveau comportemental, permet d'augmenter la rétention de l'aversion gustative (Escobar *et al.*, 2000) ; l'injection d'APV (un antagoniste des récepteurs glutamatergiques NMDA) dans le CI empêche cette potentialisation synaptique (Escobar *et al.*, 1998b, 2002). Enfin, l'effet facilitateur de l'injection de glutamate dans l'amygdale avant l'induction du malaise par une faible dose de LiCl (voir section précédente) est renversé par l'injection d'APV dans le CI dans l'heure qui suit l'injection du glutamate (Ferreira *et al.*, 2005). Les auteurs proposent que l'intégration du malaise gastrique, effectuée par l'amygdale, converge avec la représentation du goût au niveau du CI, via les projections glutamatergiques du BLA sur le CI ; le CI serait ainsi un lieu privilégié de l'association SC-SI au cours de l'AGC.

La présence d'interactions fonctionnelle entre le CI et le BLA a également été observée lors du rappel de l'AGC par Grossman *et al.* (2008) ; l'expérience consistait à enregistrer simultanément chez l'animal vigile l'activité unitaire de neurones dans le CI et le BLA, et de mesurer la connectivité fonctionnelle entre ces deux structures en estimant les cross corrélations des paires constituées par des neurones de chaque structure. La force de cette connectivité fonctionnelle est plus que doublée lors de la présentation du goût préalablement apparié au malaise (par rapport à la présentation du goût initialement neutre). Une telle augmentation n'est pas observée chez des animaux témoins n'ayant pas subi le malaise.

2.2.1.5. Les autres structures potentiellement impliquées

Le BLA et le CI sont deux structures essentielles au développement des aversions gustatives ; toutefois les récentes données indiquent qu'elles participent à un réseau neuronal beaucoup plus large faisant intervenir notamment l'hypothalamus latéral (Caulliez *et al.*, 1996 ; Fenu *et al.*, 2001), le noyau accumbens (Fenu *et al.*, 2001 ; Ferreira *et al.*, 2006), le cortex

perirhinal (Tassoni *et al.*, 2000) et le cortex préfrontal (Hernàdi *et al.* 2000; Mickley *et al.* 2005). Il n'existe que peu d'études montrant que la lésion de l'hippocampe affecte le CTA, et lorsque c'est le cas l'effet rapporté est en général mineur (Best & Orr, 1973; Reilly *et al.*, 1993 ; Bermudez-rattoni *et al.*, 1987 ; Yamamoto *et al.*, 1995); en revanche des travaux récents montrent que l'inactivation de l'hippocampe par injection de muscimol (un agoniste de la transmission GABAergique) juste avant le conditionnement aurait un effet facilitateur sur l'aversion gustative (Stone *et al.*, 2005).

2.2.2. Hypothèses sur les circuits neuronaux l'aversion olfactive

Contrairement à l'AGC, le substrat neuronal sous-tendant l'aversion alimentaire olfactive a fait l'objet de peu d'investigations. Plusieurs structures se portent néanmoins candidates, de part leur implication connue dans les autres apprentissages alimentaires et/ou olfactifs, ou parce qu'elles représentent des zones de convergence pour les informations olfactives et viscérales.

2.2.2.1. Place des aires sensorielles olfactives

Bien qu'il soit le premier étage du traitement de l'information olfactive, le bulbe olfactif (BO) semble un élément indispensable à la mise en mémoire des informations olfactives. Cette structure est le siège d'une importante plasticité structurale et fonctionnelle suite à différentes formes d'apprentissages olfactifs (*e.g.* Gervais *et al.*, 1990 ; Doucette & Restrepo, 2008 ; Pimentel & Margrie, 2008). Inversement, le blocage de l'activité du BO peut en retour perturber l'apprentissage. Ainsi, l'anesthésie transitoire du BO réalisée immédiatement après les séances d'apprentissage d'une tâche de discrimination olfactive n'empêche pas le rat d'apprendre mais perturbe sa réalisation lors d'un test effectué après 5 jours d'interruption (Mouly *et al.*, 1993). Le blocage de l'innervation cholinergique de cette structure altère les capacités de reconnaissance olfactive à court terme (Ravel *et al.*, 1994). Enfin, chez la brebis, la suppression des afférences noradrénergiques au BO empêche la mère d'apprendre l'identité olfactive de sa progéniture (Levy *et al.*, 1990).

Le contrôle centrifuge de l'entrée olfactive en fonction de l'état nutritionnel, ainsi que la participation du BO à la néophobie alimentaire et à l'aversion olfactive conditionnée ont fait

l'objet des travaux de Pager & Royet au laboratoire (Pager *et al.*, 1972, 1976 ; Royet *et al.*, 1981). En particulier, les enregistrements de l'activité multiunitaire du BO réalisés par Pager & Royet (1976) montrent que l'activité des cellules mitrales est augmentée lorsqu'un animal à satiété est stimulé avec des pulses d'air contenant une odeur préalablement associée à un malaise gastrique.

Le cortex piriforme (CP) fait également partie intégrante du réseau de la mémoire olfactive. Son implication dans la mémoire olfactive humaine a été mise à jour par divers travaux de neuroimagerie (*e.g.* Dade *et al.*, 2002 ; Gottfried *et al.*, 2004). Chez le rat, la lésion du CP antérieur réduit la capacité des animaux à acquérir une tâche de discrimination olfactive impliquant des composés odorants complexes (Staubli *et al.* 1987). Comme le bulbe olfactif, le CP est le siège de profondes modifications structurales et physiologiques suite à un apprentissage olfactif (Stripling & Patneau, 1999 ; Chaillan *et al.*, 1996 ; Mouly *et al.*, 2001 ; Roman *et al.*, 2004). Différents travaux indiquent toutefois que la subdivision postérieure du CP (CPP) serait plus particulièrement impliquée dans la mémorisation et le rappel d'associations entre un stimulus olfactif et d'autres informations sensorielles alors que le CPA (qui est la cible majoritaire des projections du BO) aurait pour fonction principale de détecter et de coder la qualité olfactive (pour revue voir Haberly, 2001) et serait impliqué dans l'habituation ou les apprentissages perceptifs (Wilson, 2000, 2003). Dans l'équipe, les travaux de Y. Sevelinges *et al.* ont clairement montré la participation du CP dans les apprentissages de peur conditionnée à l'odeur consistant en l'appariement d'un stimulus olfactif à un choc électrique (Sevelinges *et al.*, 2004, 2008). A notre connaissance, seule l'étude de Dardou *et al.* (2007) s'est intéressée à la participation du CP dans l'aversion alimentaire olfactive en montrant, chez le rat, une augmentation du marquage de la protéine Fos dans le CP suite à la présentation de l'odeur lors du rappel d'une AOPG.

2.2.2.2. L'amygdale

L'amygdale est une structure indispensable à l'encodage et à la mémorisation d'informations émotionnelles (pour revue voir Ledoux, 2000). Comme nous allons le décrire ci-après, l'amygdale a également reçu un certain nombre d'investigations la plaçant comme une structure clé de l'apprentissage d'aversion olfactive conditionnée chez le rat.

L'inactivation de l'amygdale par application d'un anesthésique local 30 minutes avant la présentation de l'odeur distale (suivie de l'injection immédiate de LiCl) empêche l'expression de l'AOC (Bermudez-Rattoni *et al.*, 1983) ; cet effet n'est pas dû à un déficit de détection olfactive ou à l'absence de sensations nociceptives lors du malaise. L'inactivation de l'amygdale empêche également l'acquisition d'une AOPG (Bermudez-Rattoni *et al.*, 1983 ; Hatfield *et al.*, 1992 ; Ferry *et al.*, 1995). La lésion sélective des différents noyaux de l'amygdale montre que seule l'intégrité du BLA est indispensable à l'apprentissage d'aversion olfactive (Bermudez-Rattoni *et al.*, 1986). Ces données suggèrent donc que le BLA est impliqué dans le processus d'association odeur-malaise au cours de l'acquisition de l'AOC. En outre, et contrairement aux conditions contrôles, il est possible d'introduire un délai SC-SI supérieur à 10 min (30 min) si la présentation de l'odeur distale est précédée de l'activation du BLA (par injection de bicuculline, un antagoniste des récepteurs $GABA_A$) (Ferry & Di Scala, 1997). Le même type de facilitation peut être obtenue cette fois en lésant le cortex entorhinal latéral (CEL) (Ferry *et al.*, 1996). En revanche, la facilitation n'est plus observée si l'inactivation du CEL est couplée avec celle du BLA (Ferry *et al.*, 1999); étant donnée la densité d'interconnections entre l'amygdale et le CEL (Lopes da Silva *et al.*, 1990), ces résultats suggèrent que le CEL pourrait intervenir dans cet apprentissage en limitant, via l'activité inhibitrice GABAergique, la capacité de rétention de l'information olfactive à court terme opérée par le BLA (Ferry *et al.*, 1999). Le système noradrénergique au sein du BLA semble également être important pour le processus d'acquisition de l'AOC (Miranda *et al.*, 2007). A notre connaissance, la seule étude portant sur le rôle de l'amygdale dans le rappel d'une aversion olfactive 'distale' est celle de Ferry *et al.* (1995) qui montre que le blocage du BLA juste avant le rappel d'une AOPG reste sans effet. Toutefois, deux récentes études (Desgranges *et al.*, 2008 ; Sevelinges *et al.*, 2009) ayant estimé l'implication de l'amygdale dans les différentes phases d'une AOC réalisée en condition 'odeur ingérée', montrent que l'inactivation du BLA pratiquée avant la présentation du SC, entre le SC et le SI ou juste avant le rappel récent (deux jours après conditionnement) ou ancien (un mois après conditionnement) perturbe dans tous les cas l'AOC (Sevelinges *et al.*, 2009) ; d'autre part, le blocage de la synthèse protéique au sein du BLA (par microinjection d'anysomycine) après l'appariement SC-SI perturbe la consolidation de l'AOC (Desgranges *et al.*, 2008). Il n'existe à notre connaissance aucune étude visant à décrire si le traitement du stimulus olfactif au sein de l'amygdale est modifié par l'apprentissage d'une aversion olfactive alimentaire, comme cela a pu être démontré dans d'autres conditionnements olfactifs aversifs basés sur l'association d'une odeur à un choc électrique (Rosenkranz & Grace, 2002).

2.2.2.3. Le cortex insulaire

Les travaux d'imagerie chez l'Homme indiquent que le cortex insulaire s'active suite à une stimulation olfactive ortho- ou rétronasale (Small *et al.*, 2005). Des travaux d'électrophysiologie chez le rat montrent également que la région agranulaire du CI contient des neurones qui répondent à une stimulation olfactive (Sewards & Sewards, 2001). Ainsi, le CI reçoit des afférences gustatives, somatosensorielles (provenant de la cavité buccale), olfactives et viscérales (Yamamoto *et al.*, 1981; Hanamori *et al.*, 1998; Sewards & Sewards, 2001) et peut donc à ce titre constituer un candidat potentiel pour relier l'information olfactive au malaise gastrique dans l'AOC, ainsi que les informations olfactives et gustatives dans le cas de la potentialisation. Toutefois, la lésion ou l'inactivation du CI dans son ensemble est reportée sans effet sur l'apprentissage et la rétention d'une AOC effectuée en condition 'distale' (Kiefer *et al.*, 1982) ou 'proximale' (Roman *et al.*, 2006 ; Desgranges *et al.*, 2009). La même procédure utilisée lors de l'acquisition de l'AOPG donne des résultats contradictoires : certains auteurs ont observé une absence d'effet de la lésion du CI (Kiefer *et al.*, 1982) alors que d'autres rapportent une perturbation de l'AOPG (Lasiter *et al.*, 1985 ; Inui *et al.*, 2006) ; l'immunomarquage des protéines Fos et Zif268 (marqueurs de l'activité et de la plasticité cérébrale) montre que le CI est activé par la présentation de l'odeur lors du rappel de l'AOPG (un tel marquage n'est pas observé chez les animaux témoins n'ayant pas subi de malaise gastrique) (Dardou *et al.*, 2006, 2007). Ces résultats suggèrent que le CI ne serait impliqué dans les apprentissages olfactifs qu'à la condition qu'un stimuli gustatif soit également mis en jeu (voir aussi Schul *et al.*, 1996 ; Sakai & Yamamoto, 2001 ; Sakai & Imada, 2003 pour des apprentissages olfacto-gustatifs non aversifs). Toutefois, des données récentes mettent en avant le rôle du CI dans l'apprentissage d'une tâche purement olfactive, la transmission sociale de la préférence alimentaire. Dans ce paradigme, un animal (observateur) développe une préférence pour une nourriture après avoir en avoir senti l'odeur dans l'haleine d'un congénère (démonstrateur) ; durant leurs interactions sociales, l'observateur va former une association entre l'odeur de la nourriture et le carbone disulfide, un composé odorant naturel produit par l'haleine du démonstrateur (Galef *et al.*, 1988). Or, l'inactivation du CI perturbe aussi bien l'acquisition que le rappel de cet apprentissage basé sur des indices purement olfactifs (Fortis-Santiago *et al.*, 2008).

2.2.2.4. La région hippocampique et le cortex entorhinal

L'hippocampe est impliqué dans la construction de représentations complexes, en permettant de relier entre elles, aussi bien dans le temps que dans l'espace, les informations multimodales collectées au moment d'une expérience vécue (pour revue voir Eichenbaum, 2004). De part la proximité anatomique des structures olfactives et limbiques, les indices olfactifs sont particulièrement propices à ce type d'encodage (Otto & Eichenbaum, 1992a ; Martin *et al.*, 2004b). Bien que sa lésion ne perturbe pas la capacité des rats à détecter les odeurs, l'hippocampe est impliqué dans des apprentissages olfactifs de type discriminatif (*e.g.* Bunsey & Eichenbaum, 1995 ; Dudchenko *et al.*, 2000 ; Martin *et al.*, 2007) et une modulation de son fonctionnement synaptique a été rapportée suite à un apprentissage de discrimination olfactive (Mouly *et al.*, 2001).

Toutefois, comme pour l'AGC, l'implication de l'hippocampe dans l'AOC et l'AOPG est sujette à controverse. A notre connaissance, seule l'étude de Miller *et al.* (1986) montre que la lésion de l'hippocampe perturbe l'acquisition d'une AOC utilisant l'odeur comme indice distal. Dans leurs travaux de 1987, Bermudez-Rattoni *et al.* ont étudié l'effet de la manipulation pharmacologique du système cholinergique de l'hippocampe dorsal sur l'AOC et l'AOPG. L'activité cholinergique de l'hippocampe est importante pour divers processus de mémorisation, et son blocage perturbe de nombreux apprentissages, y compris des apprentissages pavloviens de type conditionnement de peur (pour revue voir Parent & Baxter, 2004) ; toutefois, les travaux de Bermudez-Rattoni *et al.* (1987) montrent que le blocage de l'activité cholinergique de l'hippocampe (par microinjection de scopolamine) ne perturbe pas l'association entre un stimulus olfactif et un stimulus inconditionnel mais qu'au contraire son activation (par microinjection de physostigmine) induit un déficit de l'AOC et de l'AOPG. Ces résultats ont amené les auteurs à envisager la tâche d'aversion alimentaire comme étant indépendante de l'hippocampe. Dans une récente étude, Dardou *et al.* (2008) ont comparé les performances de rats adultes ou âgés dans diverses tâches mnésiques incluant : une tâche de discrimination olfactive, une tâche de mémoire spatiale (le retour au gîte) et l'AOPG. Alors que les rats âgés montrent des performances altérées dans les deux premières tâches, leur capacité à acquérir et à exprimer une aversion olfactive est à l'inverse meilleure que celles des rats jeunes. Il est intéressant de corréler ce résultat avec l'altération de l'activité hippocampique (entre autre) chez le rat sénescent (Hajieva *et al.*, 2008 ; Gerrard *et al.*, 2008) et la diminution du marquage fos en réponse à l'odeur lors du rappel de l'AOPG chez le rat âgé par rapport au rat jeune (Dardou, 2007).

Il existe un certain nombre de travaux ayant étudié l'implication du cortex entorhinal dans les apprentissages olfactifs. En particulier, il ressort que l'effet de sa lésion peut, selon la tâche, soit perturber l'apprentissage soit au contraire le faciliter. En effet, Otto & Eichenbaum (1992b) montrent que son intégrité est importante pour la reconnaissance olfactive à court terme dans une tâche d'appariement retardé basé sur des odeurs; le principe de ce test est d'exposer le rat à un stimulus olfactif cible qui devra être reconnu parmi deux présentés après un délai variable (de 3 seconde à 1 minute) pour recevoir une récompense. La lésion du cortex entorhinal associée à celle de l'aire périrhinale altère cette reconnaissance dans la condition où le délai est long (1 minute). Les travaux de Wirth *et al.*(1998) étudient l'effet de la lésion du cortex entorhinal dans un paradigme d'habituation-déshabituation ; pendant une première phase (habituation), l'animal est exposé à une première odeur ; après un certain délai (5, 120, 240 ou 480 min) l'animal est exposé à nouveau à cette odeur et dans le même temps à une nouvelle odeur (déshabituation) ; le comportement de l'animal s'exprime, lorsqu'il reconnaît l'odeur familière, par une exploration plus longue de l'odeur nouvelle. Chez les animaux témoins, les résultats montrent que l'animal est capable de se souvenir de la première odeur si le délai est court (5 min); en revanche, les animaux lésés montrent une bonne reconnaissance de l'odeur familière même pour des délais de 120 ou 240 min. Cette facilitation de l'apprentissage suggère que la trace mnésique de l'odeur pourrait être prolongée en l'absence du cortex entorhinal. Ces résultats sont en accord avec ce qui se passe dans l'AOC, où la lésion du cortex entorhinal latéral facilite l'apprentissage en laissant la trace mnésique de l'expérience olfactive distale conservée jusqu'à l'arrivée d'un malaise différé (Ferry *et al.*, 1996).

2.2.2.5. Les aires néocorticales : cortex orbitofrontal et cortex préfrontal médian

Le cortex orbitofrontal (COF) et le cortex préfrontal median (CPFm) sont impliqués dans un vaste ensemble de fonctions cognitives, comme la prise de décision ou la planification d'actions [voir l'édition spéciale des Annales de l'Académie des Sciences de New York consacrée au COF (déc. 2007, vol. 1121-1) et Heidbreder & Groenewegen (2003) pour une revue sur le CPFm]. Toutefois, dans le cadre de ce travail, nous nous focaliserons sur les études traitant spécifiquement du rôle de ces aires cérébrales dans la perception et la mémorisation d'informations olfactives ou dans l'élaboration du comportement alimentaire.

Le cortex orbitofrontal est une zone de convergence et d'intégration de nombreuses informations sensorielles mise en jeu lors de la prise alimentaire, en particulier olfactives et gustatives (Rolls, 2005). A ce titre, de nombreux auteurs pensent que le COF joue un rôle important dans la perception globale de la flaveur (pour revues : Shepherd, 2007 ; Small *et al.,* 2007). Les travaux de neuroimagerie chez l'Homme indiquent que le COF aurait également un rôle spécifique dans la perception consciente des odeurs (Gottfried, 2007 ; Shepherd, 2007) et la mise en place de comportements guidant la prise alimentaire, en évaluant notamment la récompense ou la perte que l'individu en retirera (Small *et al.*, 2007). Ses fortes interconnections avec le cortex piriforme et l'amygdale (Shi & Cassel, 1998 ; Illig, 2005) le place dans une situation privilégiée pour assimiler les expériences olfactives émotionnelles et permettre de produire des réponses comportementales adaptées (Gottfried, 2007). Toutefois, les travaux de Tait & Brown (2007) chez le rat montrent que l'intégrité du COF n'est pas indispensable à la discrimination olfactive. En revanche sa lésion perturbe la mise en place d'associations odeur-goût (Schul *et al.*, 1996) et le blocage de l'innervation cholinergique du COF empêche l'apprentissage de transmission sociale de la préférence alimentaire (Ross *et al.*, 2005) basé sur l'association de deux odeurs. Enfin, Dardou *et al.* (2007) ont montré une augmentation du marquage de la protéine Fos dans le COF suite à la présentation de l'odeur lors du rappel d'une AOPG, alors qu'une précédente étude (Lasiter *et al.*, 1985) n'avait pas rapporté d'effet de la lésion du COF dans l'acquisition de ce même apprentissage.

Anatomiquement, la partie ventrale du cortex prefrontal médian (regroupant les cortex prélimbique et infralimbique) représente un carrefour pour les informations olfactives issues du cortex piriforme (Datiche & Cattarelli, 1996) et les afférences viscéro-sensorielles en provenance du cortex insulaire (Hoover & Vertes, 2007). Le CPFm est également densément connecté avec l'amygdale basolatérale (Hoover & Vertes, 2007). En parallèle, il est considéré comme un centre viscéromoteur car il projette sur le noyau du tractus solitaire (Terreberry & Neafsey, 1983) et peut par ce biais influencer l'activité viscérale et autonome, comme le rythme cardiaque ou la motilité gastrointestinale (pour revue: VanEden & Buijs, 2000). Des travaux récents montrent que le CPFm est également impliqué lors d'apprentissages olfactifs : Ainsi, le blocage des récepteurs NMDA du CPFm empêche la consolidation d'un apprentissage associatif simple entre une odeur et une récompense (Tronel *et al.*, 2004). Chez la brebis, Da-Costa *et al.* (1997) montrent une augmentation parallèle du marquage Fos dans le CPFm et les voies olfactives en relation avec l'apprentissage de l'odeur de l'agneau. Toutefois, Broad *et al.* (2002) précise que le CPFm n'est pas indispensable à la reconnaissance olfactive mais qu'il est en revanche essentiel dans le comportement que l'animal doit élaborer à partir de cet indice (i.e.

accepter l'agneau dont l'odeur est familière ou au contraire rejeter l'agneau étranger). Chez le rat, le blocage de l'innervation cholinergique du CPFm empêche l'acquisition de la transmission sociale de la préférence alimentaire (Boix-Trelis *et al.*, 2007). Enfin, les travaux de Dardou *et al.* (2007) montrent une augmentation du marquage de la protéine Fos dans le CPFm suite au rappel d'une AOPG.

2.2.2.6. Conclusion

Si nos connaissances sur le substrat neuronal sous-tendant l'aversion gustative conditionnée sont aujourd'hui de plus en plus précises, la question des réseaux cérébraux de l'aversion olfactive reste encore largement inexplorée. Le tableau 1 ci-après résume les travaux de la littérature ayant directement étudié la participation de structures télencéphaliques dans l'acquisition et/ou le rappel de l'aversion olfactive, en distinguant les modes de présentation de l'indice odorant utilisés *(i.e.* distal ou proximal). A titre de comparaison, les études portant sur l'AOPG sont également répertoriées. Comme on peut le constater, la majorité des travaux portant sur l'aversion olfactive alimentaire ont utilisé l'odeur seulement comme indice distal, et aucune n'a directement comparé l'implication d'une structure cérébrale dans l'AOC 'distale' et 'proximale' pour tenter d'expliquer pourquoi il est impossible d'introduire un délai entre le SC et le SI si l'odeur n'est pas ingérée. En outre, l'hétérogénéité des approches expérimentales utilisées aboutissent parfois à des résultats contradictoires concernant l'implication d'une structure cérébrale donnée. Enfin, à l'exception de Ferry *et al.* (1999) pour le BLA et le CEL, aucune expérience n'a cherché à étudier sur le même animal le fonctionnement en parallèle de ces différentes structures au cours de l'AOC, et en particulier si des couplages fonctionnels peuvent se produire entre les différents acteurs de ce potentiel 'réseau'.

apprentissage	AOC				AOPG	
type de SC	odeur = indice distal *(olfaction orthonasale)*		odeur = indice proximal *(olfaction rétronasale)*		odeur + goût	
phase / structure	*acquisition*	*rappel*	*acquisition*	*rappel*	*acquisition*	*rappel*
bulbe olfactif		+ (1)				
cortex piriforme						+ (2)
cortex insulaire	Ø (3)		Ø (4,5)	Ø (4)	+ (6,7) Ø (3)	+ (2)
cortex entorhinal	+ (8)					+ (2)
hippocampe	+ (9) + (10)				+ (10)	+ (2)
amygdale basolatérale	+ (11,12)		+ (13)	+ (13)	+ (11)	+ (2) Ø (14)
cortex orbitofrontal					Ø (6)	+ (2)
cortex préfrontal médian						+ (2)

Tableau 1. Résumé des travaux montrant l'engagement de certaines structures cérébrales télencéphaliques dans l'acquisition et/ou le rappel de l'AOC et de l'AOPG.
+ : participation de la structure dans une phase sélective de l'apprentissage
Ø: l'altération du fonctionnement de la structure ne perturbe pas la phase de l'apprentissage
+ : l'altération du fonctionnement de la structure facilite l'apprentissage

Références bibliographiques :

(1) Pager et Royet, 1976
(2) Dardou et al., 2007
(3) Kiefer et al., 1982
(4) Desgranges et al., 2009
(5) Roman et al., 2006
(6) Lasiter et al., 1985
(7) Inui et al., 2006
(8) Ferry et al., 1996
(9) Miller et al., 1986
(10) Bermudez-Rattoni et al., 1987
(11) Bermudez-Rattoni et al., 1986
(12) Ferry & Di Scala, 1997
(13) Sevelinges et al., 2009
(14) Ferry et al., 1995

Chapitre 3. Les activités oscillatoires: un marqueur fonctionnel dynamique pour l'étude de la perception et de la mémoire

3.1. Le concept de représentation cérébrale par assemblée de neurones synchronisés

Les travaux de neuropsychologie, de neurophysiologie et plus récemment les études d'imagerie cérébrale ont montré que les processus mentaux en général, et la perception et la mise en mémoire d'informations en particulier, engagent des réseaux de structures neuronales distribuées dans le cerveau (pour revues : Goldman-Rakic *et al.*, 1992 ; Damasio & Damasio, 1994 ; Mesulam, 1994) ; la précédente description du substrat neuronal de l'aversion alimentaire gustative en est une bonne illustration. Ces réseaux vont inclure des aires cérébrales spécialisées dans le codage sensoriel de certains attributs d'un objet (par exemple pour un aliment : son odeur ou son aspect visuel), ainsi que des aires plus spécifiquement impliquées lors de tâches cognitives (attention sélective, encodage ou rappel d'une information, processus émotionnels…) ou lors de certains actes moteurs. Toutefois, cette vision du fonctionnement cérébral amène à un certain nombre de questions: comment des assemblées de neurones de nature distribuées peuvent-elles être rassemblées? Par quel mécanisme ces régions spécialisées et distribuées coopèrent-elles et interagissent-elles pour permettre, dans le cadre de processus cognitifs dynamiques, l'émergence d'un percept et /ou d'un acte cognitif cohérent? Ceci exige une méthode de codage appropriée, à la fois suffisamment souple pour s'adapter à la complexité des représentations dont le cerveau a besoin, et adaptée aux limites de rapidité du système nerveux (la transmission des influx nerveux n'étant pas instantanée).

Une hypothèse théorique suggérée par différents auteurs (pour revues voir Singer & Gray, 1995 ; Bressler & Kelso, 2001 ; Varela *et al.*, 2001) propose que l'intégration de sous-ensembles neuronaux en une assemblée cohérente est déterminée par des périodes transitoires de synchronisation temporelle fine de l'activité des neurones. Ces synchronisations peuvent s'envisager à plusieurs échelles (pour revue : Varela *et al.*, 2001): il peut s'agir de synchronisations très locales entre neurones d'une même aire cérébrale. Il peut également s'agir de synchronisations entre des aires cérébrales distantes liées entre elles par des connexions

mono- ou polysynaptiques de type feedforward et feedback: on parlera alors de synchronisation à distance ou d'intégration à large échelle (voir Figure 8).

Une assemblée de neurones synchronisés serait par définition un circuit optimum pour l'échange d'information et possèderait aussi une prédisposition naturelle à la consolidation (Hebb, 1949 ; pour revues voir Jensen *et al.*, 2007; Ravel *et al.*, 2007). En effet, la probabilité pour un ensemble de neurones convergeant sur la même synapse de déclencher un potentiel post-synaptique est plus importante si leur décharge est synchrone (Salinas & Sejnowski, 2001). Ainsi, les processus qui conduisent à la modification des connexions synaptiques (comme ceux mettant en jeu la conductance des récepteurs NMDA) pourraient tirer parti d'afférences synchronisées. En effet, selon le principe de Hebb, l'activation simultanée de plusieurs neurones faciliterait la transmission d'information entre eux, ce qui permettrait le renforcement de leur contact synaptique et donc la création de circuits de mémoire.

Bien qu'une organisation des assemblées neuronales par synchronisation ait pu être controversée (Shadlen & Movshon, 1999), un grand nombre de preuves expérimentales ont depuis été apporté en sa faveur (voir section 3.3. de ce chapitre).

Dans le paragraphe suivant, nous nous arrêterons sur le caractère oscillatoire de ces activités synchronisées.

3.2. Synchronisations oscillatoires

Depuis les années 1940, l'étude des activités de populations de neurones par des techniques classiques d'électroencéphalogramme (EEG) ou par l'enregistrement de potentiels de champ locaux (PCL) intracérébraux a en effet mis en évidence le caractère oscillatoire de ces activités, et a permis d'associer certaines fréquences oscillatoires à des états comportementaux spécifiques. Ainsi, les ondes de basse fréquence delta (0.5-4 Hz) sont associées aux phases de sommeil profond, les ondes thêta (2-12 Hz) sont observées principalement dans les structures limbiques (en particulier l'hippocampe) et sont notamment associées à la cognition spatiale, enfin les oscillations de haute fréquence beta (15-30 Hz) et gamma (30-100 Hz) sont spécifiques de l'état d'éveil et sont corrélées à des niveaux attentionnels élevés (pour revue voir Uhlhaas *et al.*, 2008). L'hypothèse du liage temporel par synchronie est souvent associée à l'existence d'oscillations dans les signaux électrophysiologiques. De fait, s'il est possible à l'échelle

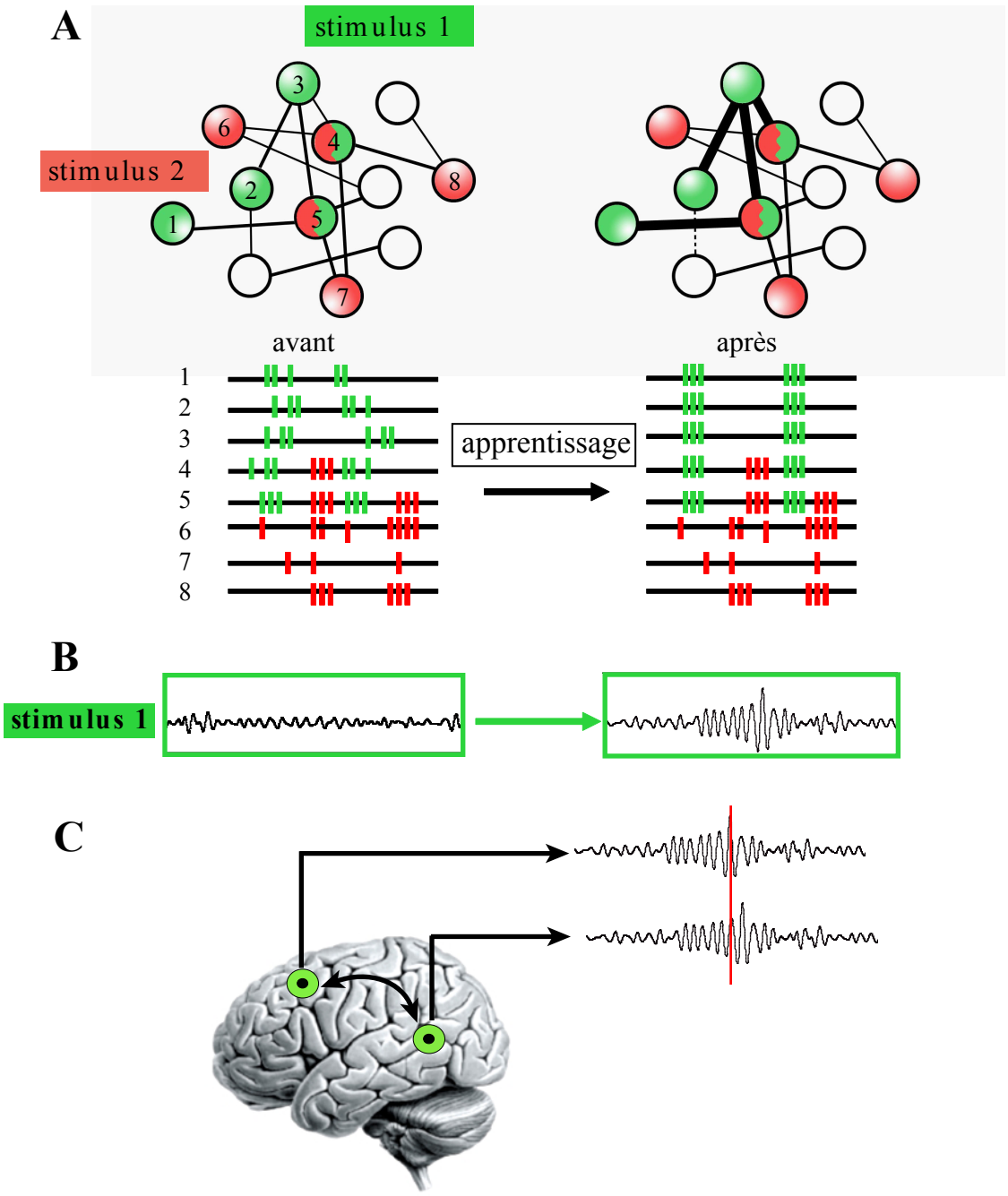


Figure 8. Représentation schématique du concept d'assemblées neuronales synchronisées (modifié d'après Ravel *et al.*, 2007). **A** : avant apprentissage, le stimulus 1 est représenté par la co-activation des neurones 1, 2, 3, 4 et 5 et le stimulus 2 par les neurones 4, 5, 6, 7 et 8. Dans une telle configuration, les neurones 4 et 5 peuvent donc participer à deux assemblées différentes selon que leur activité est cohérente avec celle des neurones 1, 2, 3 ou des neurones 6, 7, 8. Au fur et à mesure des expositions au stimulus 1 (dans le cadre d'un apprentissage par exemple), l'assemblée neuronale correspondante pourrait se consolider (renforcement des synapses par synchronisations des activités) et la cohérence d'activité devenir encore plus précise (de l'ordre de la milliseconde). **B** : A l'échelle d'un enregistrement de population (type potentiel de champ), cette évolution se traduirait par une augmentation de puissance de certaines activités oscillatoires en réponse au stimulus 1. **C**: A l'échelle d'un réseau cérébral, deux aires participant à la représentation du stimulus 1 pourraient interagir fonctionnellement par la cohérence transitoire de leur activité oscillatoire.

macroscopique d'enregistrer des fluctuations de potentiels signifie qu'il existe autour de l'électrode un grand nombre de neurones activés de façon synchronisée. Une oscillation émerge lorsque ces épisodes de synchronie sont réguliers et présentent un caractère rythmique. Les études portant sur l'enregistrement simultané des activités unitaires et des populations neuronales auxquelles elles appartiennent rapportent très souvent une corrélation entre les oscillations du potentiel de champ et la synchronie des neurones, sans toutefois élucider la question du lien qui les unit. Deux hypothèses sont envisageables (pour revues voir Singer 1993, 1999). La première considère les oscillations comme la conséquence de la synchronie. La décharge synchrone d'une population de cellules produit en effet, via l'action de mécanismes récurrents, une inhibition forte et simultanée sur cette même population de cellules. Ce phénomène favorise la synchronie de la décharge suivante, entraînant ainsi un phénomène oscillatoire. L'autre possibilité envisage les oscillations comme facteur de la synchronisation. En effet dans un régime oscillatoire, l'occurrence d'une bouffée de décharge neuronale prédit l'occurrence de la prochaine puisqu'elles se produisent à intervalles réguliers. Ainsi, l'oscillation n'est plus envisagée comme une conséquence de l'organisation temporelle de la décharge mais comme une base de temps qui permet aux neurones de se synchroniser même lorsqu'ils sont spatialement très dispersés. Ce travail n'a pas pour objectif de favoriser l'une ou l'autre de ces hypothèses, nous nous intéresserons ici au fait qu'un potentiel de champ oscillatoire est indissociable de la synchronisation régulière des populations neuronales sous-jacentes, et qu'à ce titre son exploration permettrait d'évaluer :

- **si une meilleure coopération cellulaire se produit à un moment donné dans une aire cérébrale donnée**, ce qui pourrait se traduire par l'émergence ou l'amplification d'un phénomène oscillatoire dans une certaine bande de fréquence (pour revue voir Tallon-Baudry & Bertrand, 1999).

- **si un couplage fonctionnel se produit entre deux régions cérébrales données partageant à un moment donné un régime oscillatoire de même fréquence**, ce qui se traduirait par la cohérence de phase de leur activité oscillatoire (Bressler & Kelso, 2001 ; Varela *et al.*, 2001). Ceci peut être efficacement évalué par l'étude de la synchronisation de phase (Lachaux *et al.*, 1999 ; Rudrauf *et al.*, 2006) ; cette approche permet en effet de mesurer les relations entre les structures temporelles de deux signaux sans tenir compte de leur variation d'amplitude respective: deux signaux oscillant à la même fréquence seront dits synchronisés même s'ils n'oscillent pas en phase l'un avec l'autre mais que leur différence de phase reste constante sur une certaine période de temps.

Il est à préciser que les deux phénomènes de sont pas forcément dépendants l'un de l'autre ; on peut en effet envisager qu'une activité oscillatoire de même fréquence émerge ou augmente en puissance simultanément dans deux régions cérébrales sans que toutefois une communication inter-aire ait lieu ; inversement deux régions cérébrales peuvent communiquer sans pour autant présenter une activité oscillatoire amplifiée. Il semble donc important d'étudier ces deux phénomènes en parallèle.

3.3. Données expérimentales en faveur du concept de représentation par assemblée neuronales synchronisées

La synchronisation oscillatoire a été observée dans tous les systèmes sensoriels, dans le système moteur, dans les structures associatives et de mémoire et ce chez différentes espèces animales : oiseaux, rongeurs, primates, Homme … (pour revue voir Engel & Singer, 2001). De manière générale les synchronisations d'activités oscillatoires ne reflètent pas qu'un seul processus mental mais plutôt un mécanisme neuronal plus universel permettant, via des phénomènes de couplage et découplage fonctionnels, le transfert d'informations entre des aires distantes mais participant aux mêmes processus (multi)sensoriels, cognitifs ou exécutifs. Il s'agirait même pour certains auteurs d'un mécanisme possible sous-tendant les différents états de la conscience (Engel & Singer, 2001 ; Sewards & Sewards, 2001 ; Crick & Koch, 2003). Dans les deux sections suivantes, nous détaillerons certaines expériences montrant que des synchronisations oscillatoires caractéristiques se produisent lors de processus de perception et de mémorisation. La définition des bandes oscillatoires variant légèrement selon les auteurs, nous préciserons à chaque fois quelle est la fréquence concernée.

3.3.1. Synchronisation oscillatoire et perception

A l'origine, l'hypothèse d'assemblées neuronales synchronisées a d'abord été proposée dans le contexte de la perception visuelle pour expliquer comment les différents attributs d'un même objet visuel (forme, couleur, contour), encodés de manière indépendante par différentes populations de neurones spécialisés, pouvaient être liés entre eux et reconstituer de manière

cohérente l'objet perçu (pour revues voir Singer, 1993; 1999 ; Engel & Singer, 2001 ; Fries *et al.*, 2007). Par des enregistrements de neurones unitaires chez l'animal anesthésié, ces études ont prouvé l'existence de synchronisations rythmiques spécifique des cellules répondant au même objet dans une bande de fréquence comprise entre 30 et 60 Hz (bande beta-gamma). Ces synchronisations s'observent entre des neurones appartenant à la même aire visuelle, à des d'aires visuelles distinctes ou même entre hémisphères (Engel *et al.*, 1991). A ces synchronisations rythmiques des décharges neuronales sont associés des potentiels de champs locaux oscillatoires dans la même bande de fréquence. Chez le chat éveillé, Fries *et al.* (1997) ont directement montré que ces phénomènes oscillatoires étaient liés à la perception de l'objet ; pour cela, les auteurs ont tiré profit de la particularité des animaux atteints de strabisme pour lesquels le signal de chaque œil est perçu alternativement et non pas simultanément. En présentant des motifs en mouvement à chacun des deux yeux et en repérant le stimulus qui est perçu consciemment par le déplacement spécifique de l'œil dans la direction de ce mouvement, les auteurs ont pu montrer que les neurones du cortex visuel primaire associés au stimulus perçu sont fortement synchronisés, alors que les neurones répondant au stimulus présenté à l'autre œil ne présentent qu'une très faible corrélation temporelle.

Chez l'homme, plusieurs études EEG ont montré que des activités oscillatoires dans des bandes de fréquence caractéristiques accompagnent la construction de percepts signifiants à partir de divers stimulus. Ainsi, la détection d'une forme signifiante dans un stimulus visuel ambigu (Tallon-Baudry *et al.*, 1996, 1997), l'attention sélective portée à un son de fréquence particulière (Bidet-Caulet *et al.*, 2007), ou la détection d'une odeur présentée à des concentrations supraliminaires (Kline *et al.*, 2000) sont corrélées à la modulation de puissance d'un régime oscillatoire spécifique et présentant une distribution localisée à certaines régions sur le scalp. Ces activités transitoires (quelques centaines de ms) sont induites par le stimulus et leur latence d'apparition peut légèrement varier d'essai en essai (Tallon-Baudry *et al.*, 1996). Ces bouffées oscillatoires sont en partie modulées par des processus "top-down" de type attentionnel (pour revues voir Engel & Singer, 2001 ; Tallon-Baudry, 2004) et pourraient constituer le support de phases de synchronisation et désynchronisation actives entre différentes régions cérébrales. Par exemple, Rodriguez *et al.* (1999) ont utilisé des figures de Mooney pouvant soit représenter un visage humain si elles sont orientées à l'endroit, soit une tâche noire et blanche non signifiante si elles sont orientées vers le bas. La tâche des sujets consistait à rapporter le plus rapidement possible (par appui sur un bouton) s'ils voyaient ou non un visage dans les images qui leur étaient présentées. Les auteurs ont montré une augmentation significative de la puissance dans la bande de fréquence gamma (30-80 Hz) environ 200 ms après le début de la présentation de

l'image dans le cas où le sujet percevait le visage par rapport à la condition de non-perception. De façon intéressante, les auteurs rapportent en parallèle un épisode de synchronisation significative entre les régions pariéto-occipitales et fronto-temporales, suivi d'une phase de désynchronisation massive entre les régions pariétales et occipito-temporales. Ce pattern spatiotemporel de synchronisation/désynchronisation est directement relié au traitement perceptif. En revanche, une phase finale de synchronisation entre les régions temporales droites et centrales est observée dans les deux conditions (perception et non-perception) et serait elle reliée à l'élaboration de la réponse motrice.

3.3.2. Synchronisation oscillatoire et mémoire

La relation entre les activités oscillatoires et les processus mnésiques a également fait l'objet de divers travaux (pour revue voir Jensen *et al.*, 2007).

En premier lieu, leur rôle fonctionnel a été étudié dans le cadre de la mémoire de travail (une forme de mémoire à court terme) définie comme la capacité à retenir et à manipuler des informations ayant disparu. Dans les travaux de Tallon-Baudry *et al.* (1998, 1999) une forme quelconque (non verbalisable) est présentée à des sujets, puis suivie d'un délai à l'issue duquel une autre forme apparaît. Le sujet doit déterminer si la seconde forme est identique à la première. Il doit donc pour cela garder en mémoire les caractéristiques du premier objet. Les enregistrements d'EEG de scalp montrent, pendant le délai de rétention du stimulus, une augmentation de l'activité oscillatoire dans la bande gamma (30-80Hz) ainsi qu'une augmentation d'énergie dans les plus faibles fréquences (beta, 15-20 Hz) dans les régions occipito-temporales et frontales, classiquement impliquées dans les processus de mémoire à court terme. La durée pendant laquelle cette activité est maintenue est directement dépendante de la durée du délai. Ces travaux suggèrent que la représentation mentale d'un stimulus pourrait donc être conservée dans un réseau de structures distribuées et liées entre elles par une activité oscillatoire commune (cf. revue Tallon-Baudry & Bertrand, 1999). D'ailleurs des enregistrements intra-cérébraux au cours de la même tâche de mémoire révèlent que pendant le délai, une synchronisation apparaît spécifiquement dans la bande de fréquence bêta (15-25 Hz), entre des régions du cortex extrastrié distantes de quelques centimètres (Tallon-Baudry et al, 2001). Dans un autre type de tâche (mémoire verbale) réalisée avec la participation de patients épileptiques porteurs d'électrodes intracérébrales au niveau de l'aire de Broca, du cortex prefrontal et du gyrus fusiforme, Mainy *et al.* (2007) ont montré que la puissance des

oscillations gamma augmentait dans ces régions avec le nombre d'item à retenir, *i.e.* avec la charge mnésique.

L'implication des synchronisations neuronales dans l'encodage et le rappel d'informations dans une mémoire à plus long terme a également été étudiée. Par des enregistrements électrophysiologiques *in vivo* chez le rat, Hölscher *et al.* (1997) ont montré qu'une potentialisation synaptique à long terme (correspondant à une augmentation importante et durable de l'efficacité synaptique telle que celles pouvant se produire lors d'un apprentissage) peut être induite en couplant des bursts de stimulation haute fréquence avec le pic des oscillations thêta enregistrées dans l'hippocampe ; en revanche si le même protocole est appliqué au creux du rythme thêta, le phénomène de dépression synaptique est observée. Chez les patients épileptiques implantés intracérébralement, Fell *et al.* (2001) montrent des épisodes de synchronisation et de désynchronisation active entre l'hippocampe et le cortex rhinal lors de l'encodage d'une tâche de mémorisation de mots. Il existe également des études chez l'Homme qui montrent que les activités oscillatoires gamma observées au cours de l'encodage mnésique sont prédictives de la rétention à long terme de l'information (Gruber *et al.*, 2004 ; Sederberg *et al.*, 2007). Osipova *et al.* (2006) ont démontré que la réussite de l'encodage et du rappel d'une mémoire déclarative (de type reconnaissance d'items visuels) est associée à l'augmentation de puissance de l'activité oscillatoire gamma dans le cortex occipital et de celle du thêta dans l'hémisphère droit. Les auteurs suggèrent qu'au cours de l'encodage, la synchronisation oscillatoire au sein de réseaux neuronaux spécifiques permettrait le renforcement synaptique de certaines connexions, et pourrait ainsi aboutir à la formation d'une représentation en mémoire de l'item, alors qu'au cours du rappel une augmentation de puissance dans une bande fréquentielle pourrait refléter la réactivation de cette trace mnésique.

En résumé, l'ensemble de ces preuves expérimentales indiquent que la mise en synchronie de certaines assemblées neuronales (à des échelles larges ou plus locales) pourrait être associée à des phénomènes de perception et de mémoire. Néanmoins, si le fonctionnement cérébral normal repose sur les synchronisations oscillatoires, alors l'altération de cette synchronie devrait produire des perturbations sélectives de ce fonctionnement. De nombreuses études cliniques indiquent en effet qu'une altération globale des activités oscillatoires est associée à des désordres neuropsychiatriques tels que la schizophrénie (pour revue voir Uhlhaas *et al.*, 2008). Toutefois, la seule preuve expérimentale directe à ce jour montrant qu'un comportement est altéré en absence de synchronisation neuronale a été fournie par Stopfer *et al.* (1997) dans le système olfactif chez l'abeille. Lorsqu'on applique au niveau du lobe antennaire

(équivalent du bulbe olfactif chez le mammifère) de la picrotoxine, un antagoniste des récepteurs GABAergique, on bloque la synapse inhibitrice entre neurones locaux et neurones de projection. Ceci entraîne la désynchronisation oscillatoire de ces cellules sans altérer leur profil de décharge ou leur sélectivité à l'odeur. En revanche, cette action pharmacologique abolit la réponse oscillatoire à une odeur observée dans le corps pédonculé (équivalent du cortex piriforme). En parallèle, les auteurs ont montré qu'après ce traitement l'abeille présentait des difficultés à discriminer des odeurs structurellement proches alors qu'il lui était toujours possible de différencier deux odeurs très éloignées.

3.4. Les activités oscillatoires dans le système olfactif : lien avec la construction de représentations olfactives

Les enregistrements de potentiel de champ locaux (PCL) montrent que chacun des étages du système olfactif génère des activités oscillatoires, soit de manière spontanée soit en réponse à des stimulations olfactives. Leur fréquence varie entre 1 et 100 Hz. Nous ferons la distinction entre trois grands régimes oscillatoires : *(i)* une bande d'**ondes lentes** de fréquence comprise entre 1 et 15 Hz *(ii)* une bande **beta** s'étendant de 15 à 40 Hz *(iii)* une bande **gamma** s'étendant de 60 à 90 Hz.

3.4.1. Les ondes lentes (0-15 Hz)

Il coexiste au sein des aires olfactives deux rythmes lents de grande amplitude et de fréquences recouvrantes: l'un d'origine externe correspondant à une modulation de l'activité électrique de ces régions par le rythme respiratoire (Gault & Leaton, 1963) et l'autre d'origine endogène correspondant au rythme thêta classiquement enregistré dans les structures limbiques comme l'hippocampe ou le cortex entorhinal. L'importance fonctionnelle de ce rythme dans les structures limbiques est bien démontrée (Buzsáki, 2002), toutefois son implication par rapport à la perception olfactive reste aujourd'hui peu étudiée du fait de l'ambigüité existant entre ces deux rythmes. En effet, pendant les périodes de flairage actif qui accompagnent l'exploration, modulation respiratoire et rythme thêta sont parfaitement corrélés (Macrides *et al.*, 1982 ; Kay, 2005). Dans ce qui suit nous porterons notre attention plutôt sur les deux autres rythmes pour lesquels on dispose de plus de données à la fois sur leur phénoménologie et sur leur implication

fonctionnelle. J'insisterai en particulier sur l'apport des récents travaux de l'équipe dans le contexte de la mémoire olfactive (Ravel *et al.*, 2003 ; Martin *et al.*, 2004a, b, 2006).

3.4.2. Les bouffées d'oscillations dans la bande gamma (60-90 Hz) : un marqueur d'état comportemental

En activité spontanée, le signal de potentiel de champ local (PCL) enregistré au niveau des aires olfactives primaires de l'animal éveillé se caractérise par la prépondérance de bouffées d'oscillation rapide appartenant à la bande gamma (60-100 Hz). Dans le bulbe olfactif, ces bouffées (d'une durée de 150 à 500 ms) se positionnent de façon régulière à la transition inspiration-expiration de chaque cycle respiratoire (voir un exemple d'enregistrement Figure 9). L'origine de cette activité oscillatoire est vraisemblablement bulbaire, et semble plus précisément liée au fonctionnement de la boucle d'excitation-inhibition formée par les interneurones granulaires et les cellules mitrales (Bressler *et al.*, 1987 ; Linster & Gervais, 1996 ; Nusser *et al.*, 2001 ; Martin *et al.*, 2004b, 2006).

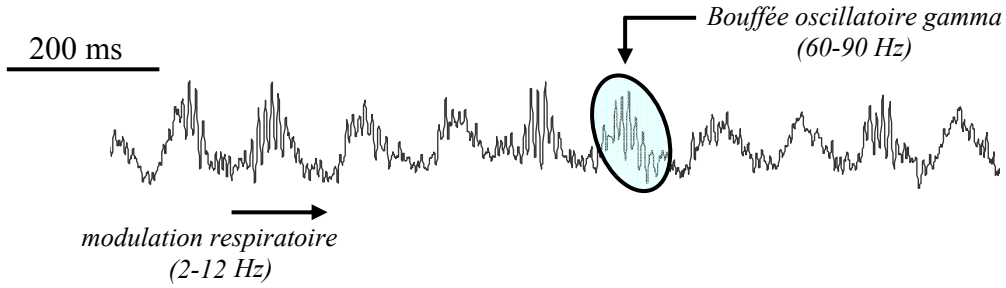


Figure 9. Exemple de tracé brut recueilli dans le bulbe olfactif du rat vigile en activité spontanée (filtré entre 0 et 300 Hz). D'après Ravel *et al.*, 2007.

Ces oscillations peuvent également être enregistrées au niveau de la partie antérieure du cortex piriforme mais disparaissent progressivement dans les structures plus caudales. La section du tractus olfactif latéral (le faisceau de fibres acheminant les informations des mitrales vers les cortex olfactifs supérieurs) supprime leur émergence au niveau du cortex piriforme mais pas du BO (Neville & Haberly, 2003). Cette activité oscillatoire serait également sous le contrôle des afférences centrifuges puisque la lésion ou l'inactivation du pédoncule olfactif (le

faisceau de fibres centrifuges au BO) conduit à une amplification des bouffées gamma ; en effet, en absence de contrôle centrifuge, les cellules granulaires seraient moins stimulées et exerceraient donc une inhibition moins importantes sur les cellules mitrales (Gray & Skinner, 1988a ; Martin *et al.*, 2004b, 2006).

Lorsque l'animal échantillonne une odeur, une diminution de l'amplitude des bouffées d'oscillations gamma est observée dans le BO. Cet effet est observé pour des odeurs sans valeur comportementale pour l'animal (Gray & Skinner, 1988b), ainsi que pour des odeurs ayant une signification innée (urine, odeur de prédateur) ou acquise par apprentissage (Boeijinga & Lopes da Silva, 1989). Freeman *et al.* (1978, 1982) ont étudié la distribution spatiale de cette activité en enregistrant simultanément l'activité électrique captée par 64 électrodes réparties sur la surface du bulbe olfactif de lapins vigiles lors de diverses situations expérimentales (changement d'environnement, arrivée d'une odeur…). En activité spontanée, l'amplitude de ces bouffées varie d'une électrode à l'autre ; en reliant les points d'iso-amplitude des bouffées oscillatoires gamma, les auteurs ont pu reconstruire des cartes correspondant à des motifs relativement fixes dans le temps pour un animal donné. Si le contexte expérimental reste stable, ces cartes ne sont pas modifiées ; il en est de même si l'on présente une odeur nouvelle à l'animal. En revanche, si l'odeur est associée à un renforcement la carte est modifiée de façon durable et ce même en activité spontanée. Ces résultats suggèrent que le rythme gamma serait d'avantage lié à l'attente et aux prédictions de l'animal par rapport à un stimulus qu'à la nature même de ce stimulus. Des travaux plus récents ont conduit à l'identification de 2 sous types d'oscillations gamma, qui diffèrent par leur fréquence, leur durée et leur moment d'occurrence. Ces deux activités entretiennent chacune une relation différente avec le comportement (Kay, 2003). Le gamma de type 1 correspond à celui qui nous venons de décrire : situé entre 70 et 90 Hz, il apparaît sous forme de bouffée à chaque cycle respiratoire et est associé à un comportement d'exploration active. Le gamma de type 2 présente une fréquence inférieure (50-60 Hz), est très faiblement corrélé au rythme respiratoire et apparaît lors des phases d'immobilité attentive de l'animal.

Les travaux de l'équipe ont permis de mettre à jour la modulation de l'expression du rythme gamma rapide au cours d'un apprentissage olfactif de type discriminatif (Ravel *et al.*, 2003 ; Martin *et al.*, 2004a, b, 2006). Les animaux sont placés dans une enceinte expérimentale dont l'une des parois est équipée d'un port à odeur. Dans une première phase le rat explore la cage et découvre qu'il peut recevoir des stimulations olfactives (eugénol ou géraniol) en mettant son museau dans ce port à odeur. A chaque fois que l'odeur délivrée est le géraniol, une récompense (de l'eau sucrée) est distribuée à l'autre bout de la cage. Inversement, la délivrance

d'eugénol est sanctionnée par la distribution de quinine (une solution amère). Au début de l'apprentissage (*stade naïf*), l'animal ne fait aucune relation entre les deux évènements et les deux odeurs n'ont pour lui aucune signification comportementale. Progressivement, l'animal apprend à ne pas courir à la mangeoire en réponse à l'eugénol (réponse No Go) et à le faire systématiquement dans le cas où le géraniol est délivré (réponse Go). Dans cette dernière phase (*stade expert*), chacune des deux odeurs a acquis une signification comportementale spécifique pour l'animal. En parallèle, l'enregistrement des potentiels de champ locaux dans les aires olfactives (BO, CPA, CPP, CEL) chez le rat effectuant la tâche révèle un écrasement des bouffées oscillatoires gamma observées en spontanée dans le BO et le CPA lors de l'échantillonnage actif de l'odeur, et ce au profit de l'émergence d'une activité oscillatoire beta dont nous détaillerons les caractéristiques dans la section 3.4.3. ci-après. Cet effet est observé dès le stade débutant. En revanche, l'écrasement des bouffées gamma est beaucoup plus important chez les animaux experts et peut même être le plus souvent observé dès l'approche du port à odeur (voir Figure 10). En revanche, ce résultat est observé quelque soit la nature chimique de l'odeur et sa valence comportementale. Ainsi, les bouffées d'activité gamma ne semblent pas participer au codage du stimulus olfactif en lui même mais seraient en revanche liées à l'état interne de l'animal et à sa connaissance du contexte expérimental dans lequel les odeurs sont délivrées.

3.4.3. Les oscillations beta (15-40 Hz) : un marqueur de plasticité et de liage fonctionnel

Contrairement aux bouffées oscillatoires observées dans la bande gamma, les oscillations de la bande beta (15-40Hz) ne sont pas (ou très peu) visibles en activité spontanée. Leur émergence dans les différents étages du système olfactif est conditionnée par le fait que l'animal flaire une odeur. Cette activité oscillatoire beta est d'autant plus importante que l'odeur possède une signification comportementale pour l'animal. Ainsi, une augmentation de forte amplitude dans cette bande est rapportée chez le lapin suite à la simple présentation répétée d'une odeur (Gray & Skinner, 1988b). Elle est aussi observée en réponse à des odeurs possédant une signification naturelle pour l'espèce considérée (Heale *et al.*, 1994 ; Zibrowski & Vanderwolf, 1997) ou après un apprentissage olfactif associatif (Boeijinga & Lopes da Silva, 1989). Cet effet

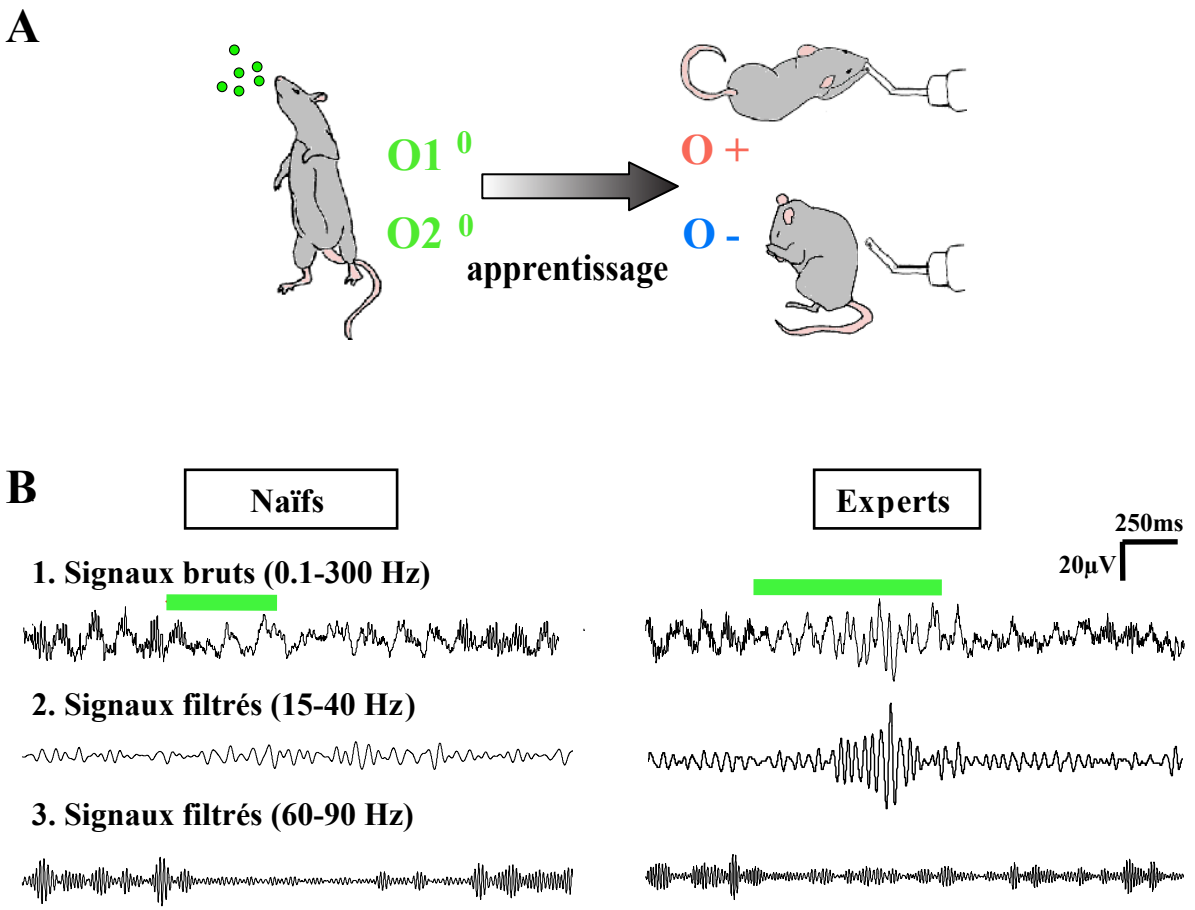


Figure 10. Modulation des activités oscillatoires au sein du système olfactif au cours d'un apprentissage olfactif discriminatif (modifié d'après Ravel *et al.*, 2003, 2007). **A**. Tâche comportementale de Go-NoGo : deux odeurs (01 et 02) sans signification comportementale pour l'animal naïf acquièrent par apprentissage une valeur positive ou négative selon que leur présentation est associée à une récompense (solution sucrée) ou à une punition (solution amère). **B.** Exemples de signaux recueillis dans le bulbe olfactif à différents stades de l'apprentissage **1.** Signaux bruts, filtrés entre 0,1 et 300 Hz tels qu'ils sont visualisés on line. Le marqueur vert indique la durée de l'exposition à l'odeur. Ces mêmes signaux sont filtrés dans la bande beta (**2.**) et gamma (**3.**). Chez l'animal naïf, le flairage d'une odeur conduit à un écrasement des bouffées d'oscillations gamma présentes en activité spontanée et à l'émergence d'une activité beta. Ces deux effets sont très fortement amplifiés après apprentissage lorsque l'animal discrimine la signification comportementale de chacun des stimuli.

a été observé en parallèle dans le bulbe olfactif, le cortex piriforme et le cortex entorhinal (Boeijinga & Lopes da Silva, 1989). Dans l'équipe, les travaux de Chabaud et al. (2000) ont montré que la puissance de ce phénomène pouvait être modulée par l'intérêt que présente le stimulus odorant en regard de l'état nutritionnel de l'animal, et ce dans les différents étages du système olfactif. En effet, la présentation de l'odeur de son aliment habituel à un rat induit l'émergence d'une activité oscillatoire beta transitoire significativement plus importante lorsque l'animal est affamé que lorsqu'il est rassasié. Lorsque les stimuli sont répétés de manière rapprochée, on obtient au fil des présentations une atténuation de la puissance de l'activité beta en réponse à l'odeur sauf s'il s'agit d'une odeur alimentaire chez un animal affamé. Cette habituation s'exprime toutefois de façon différentielle pour les différentes aires enregistrées puisque la partie antérieure du cortex piriforme maintient sa réponse à l'identique au fil des présentations quel que soit l'état de l'animal. Lorsque l'animal est affamé, les réponses à l'odeur sont maintenues dans le BO et le CEL alors qu'en parallèle elles augmentent dans la partie postérieure du cortex piriforme.

Ce résultat suggère que les activités de population de la bande beta sont associées au traitement d'informations présentant naturellement une signification pour l'animal dans un contexte donné (ici l'odeur de l'aliment familier pour un animal affamé).
Que se passe t'il cette fois lorsqu'on se place dans la situation ou des indices olfactifs neutres *a priori* acquièrent une signification comportementale pour l'animal au cours d'un apprentissage? Les modalités d'émergence de l'activité oscillatoire beta ont été étudiées au cours de la mise en place de la tâche de discrimination olfactive décrite précédemment (Ravel *et al.*, 2003, Martin *et al.*, 2004a, b, 2006, voir Figure 10). Lorsque les animaux sont naïfs, l'échantillonnage actif d'une odeur se traduit par un écrasement des bouffées d'activité oscillatoire gamma dans le bulbe olfactif et la partie antérieure du cortex piriforme. Parallèlement, la perception d'une odeur, quelle que soit sa nature, amplifie légèrement la puissance du signal dans la bande beta et ceci dans l'ensemble des aires olfactives. Au fur et à mesure que l'animal acquiert l'apprentissage (stade expert) la puissance dans la bande beta va considérablement augmenter en réponse à chacune des deux odeurs utilisées dans le conditionnement. Toutefois, la modulation en puissance de cette activité oscillatoire au cours de l'apprentissage ne se manifeste pas de manière uniforme dans les différentes aires olfactives: son amplification est maximale dans le BO avec cependant des variations en fonction des sites d'enregistrement. Ainsi, Martin *et al.* (2004a) en enregistrant l'activité de PCL en différents points du bulbe olfactif, ont non seulement montré qu'il existait dans le BO une topographie du régime oscillatoire beta différente

en fonction de la nature chimique des stimuli olfactifs délivré mais aussi que cette topographie évoluait au cours de l'apprentissage. Dans le cortex piriforme, cette activité oscillatoire beta augmente également avec l'apprentissage mais de façon beaucoup plus prononcée dans la partie postérieure que dans la partie antérieure. Enfin, elle ne varie pas en puissance dans le cortex entorhinal latéral (Martin *et al.*, 2004b). Par la suite, Martin *et al.* (2006) ont voulu déterminer si cette activité beta prenait son origine dans le bulbe olfactif pour être transmise aux cortex supérieurs ou bien si elle pouvait être le fait des connexions réciproques existant entre ces différentes structures. Pour cela, les auteurs ont pratiqué chez les animaux experts une inactivation transitoire à la lidocaïne de la partie médiane du pédoncule olfactif (en évitant de toucher aux fibres ascendantes) pour bloquer les afférences centrifuges au BO en provenance du CP. L'enregistrement en parallèle des PCL dans ces deux régions révèlent qu'en réponse à une stimulation olfactive, l'activité beta induite par l'odeur est très atténuée du côté lésé et ce aussi bien dans le BO que dans le CP. Lorsque l'effet de l'anesthésique s'estompe, la puissance de l'activité beta retrouve un niveau élevé dans chacune des structures. Ces résultats amènent à privilégier l'hypothèse selon laquelle ces oscillations ne seraient donc pas seulement la marque d'une assemblée intra-bulbaire locale, mais seraient plutôt le reflet d'interactions cortico-corticales au sein d'un réseau couvrant l'ensemble des structures impliquées dans le traitement des informations olfactives dans un contexte donné. Ce réseau fonctionnel se mettrait en place lors des présentations successives d'un même stimulus dans les conditions d'apprentissage. Ces résultats suggèrent que l'émergence d'un rythme oscillatoire beta pourrait apparaître comme un bon marqueur de la plasticité induite dans le réseau olfactif des suites d'un apprentissage.

Chapitre 4. Problématique

Au vu des éléments présentés dans cette synthèse bibliographique, il apparaît qu'un animal peut former par apprentissage une représentation mentale de l'aliment qu'il a consommé ; cette représentation prend en compte les stimulations sensorielles liées à la consommation de cet aliment (*e.g.* l'odeur, le goût de l'aliment) mais également les conséquences de son ingestion (*e.g*. un malaise gastrique).

La conception scientifique actuelle de la mémoire est que l'ensemble du circuit neuronal ayant participé à l'analyse et au traitement de l'information acquise est susceptible de se modifier à la suite d'une expérience ; ainsi la construction et le rappel d'un souvenir pourraient mettre en jeu un même réseau d'aires cérébrales largement distribuées et interagissant de manière active (Squire, 1986 ; Jensen *et al.*, 2007).

Si certains travaux ont déjà permis d'identifier l'implication d'une structure cérébrale donnée au cours de l'aversion olfactive conditionnée (AOC, voir tableau de synthèse p. 65), ils ne prennent toutefois pas en compte cette dimension de réseau dynamique. Au regard des éléments présentés dans le chapitre 3, nous pensons qu'il est pertinent d'aborder cette question par une approche électrophysiologique visant, par des enregistrements multisites de potentiel de champ locaux intracérébraux, à appréhender les changements d'activités oscillatoires se produisant au cours de l'AOC dans les aires cérébrales considérées.

Comme nous avons pu le décrire, la mise en place par apprentissage d'une représentation de l'aliment consommé pourrait se traduire, selon les principes présentés, par la mise en place d'assemblées de neurones dont l'activité est mieux coordonnée. En conséquence, l'implication d'une structure dans l'AOC devrait se manifester par des changements de son activité oscillatoire en réponse à la présentation du SC avant et après apprentissage et /ou par l'évolution du couplage de son activité avec les autres aires cérébrales participant au réseau responsable de cette représentation.

Notre hypothèse de travail est la suivante : **en fonction de la façon dont l'animal va expérimenter et apprendre le stimulus olfactif, le réseau cérébral recruté lors du rappel de cet apprentissage va être différent ou va mettre en jeu des interactions cérébrales fonctionnelles différentes.**

Pour tester cette hypothèse, nous avons choisi de confronter deux situations expérimentales permettant d'aboutir à l'AOC mais ne mettant pas en jeu la même expérience du stimulus olfactif. Dans la première situation, le stimulus olfactif sera uniquement expérimenté par l'animal de manière distale. Dans la seconde situation, l'indice olfactif sera à la fois expérimenté de manière distale mais aussi de manière proximale, puisqu'il sera mélangé à la boisson et donc ingéré. La comparaison des réseaux cérébraux sollicités par le traitement du stimulus avant et après apprentissage devrait révéler l'implication sélective de certains circuits neuronaux dans la représentation des différents attributs de l'aliment et dans l'association de ces derniers avec le malaise viscéral.

Pour réaliser ce projet, notre première tâche a consisté en la mise au point d'un test comportemental d'aversion olfactive conditionnée compatible avec ce type d'approche électrophysiologique chez le rat vigile et nous permettant en parallèle de manipuler les différentes formes de stimulations olfactives (odeur délivrée de manière orthonasale et/ou rétronasale). A l'issue de cette mise au point, une série d'expériences pilotes nous a permis de nous assurer que les animaux étaient capables d'acquérir une aversion olfactive conditionnée dans nos conditions expérimentales.

Passée cette étape de validation, notre première étude expérimentale a eu pour objectif de caractériser, d'un point de vue comportemental, l'importance respective de l'olfaction orthonasale et rétronasale dans les différentes étapes de l'aversion olfactive conditionnée (acquisition, rappel, extinction). Une série d'expériences complémentaires menée en parallèle, nous a permis de vérifier la spécificité de l'apprentissage vis-à-vis de l'odeur utilisée comme SC et le maintien du comportement aversif sur une grande période temporelle.

Une fois le modèle comportemental précisément caractérisé, nous avons, dans un deuxième temps, entrepris d'enregistrer, chez l'animal engagé dans une AOC distale ou proximale, l'activité de potentiel de champ locaux de manière simultanée dans six régions cérébrales différentes: le bulbe olfactif, le cortex piriforme, l'amygdale basolatérale, le cortex insulaire, le cortex orbitofrontal et le cortex préfrontal médian. Au vu des données expérimentales décrites dans le chapitre 2, ces structures apparaissaient en effet comme des candidats sérieux pouvant jouer un rôle à un moment ou à un autre de l'apprentissage aversif.

Résultats expérimentaux

Présentation du dispositif expérimental

La première étape de ce travail expérimental a consisté à développer un protocole d'aversion olfactive conditionnée nous permettant de contrôler précisément les différentes conditions de stimulation olfactive et prenant en compte les contraintes liées à l'acquisition de signaux électrophysiologiques. Ces contraintes sont de deux types *(i)* L'analyse des réponses électrophysiologiques est basée sur la répétition de plusieurs essais où l'activité de base, en l'absence de stimulation, est comparée à l'activité en réponse à un stimulus dont l'occurrence est précisément déterminée. Ceci nous a contraint à fractionner la prise de boisson de l'animal ce qui n'avait jamais été testé sur ce type de tâche. En effet, dans les protocoles classiques d'aversion alimentaire conditionnée (Ferry *et al.*, 1996 ; Desgranges *et al.*, 2009), le rat reste dans sa cage d'élevage et sa boisson habituelle (eau) est simplement remplacée par le stimulus conditionnel (solution sapide ou odorante) qu'il peut librement consommer au cours de la totalité de la session expérimentale *(ii)* D'autre part, nous souhaitions analyser l'activité évoquée par le stimulus olfactif avant que l'animal ne manifeste sa réponse de consommation, d'une part pour éviter les artefacts liés aux mouvements et d'autre part pour se concentrer sur l'analyse de ce stimulus en l'absence de réponse motrice. Ces besoins nous ont conduits au principe du dispositif expérimental présenté ci-dessous (voir Figure 11).

L'animal est placé dans une cage munie d'un dispositif permettant de régler précisément la durée de la stimulation olfactive et de contrôler l'accès à la pipette de boisson. La séance expérimentale de 20 minutes est fractionnée en essais. Chaque essai est initié par l'animal lui-même qui déclenche la stimulation olfactive au niveau d'un port à odeur. Cette stimulation dure 30 secondes au total. 4 secondes après le début de l'odeur, la pipette de boisson est rendue accessible et ce pour une durée de 26 secondes c'est-à-dire jusqu'à la fin de la stimulation olfactive. Ce dispositif nous assure la discrétisation de la séance en essais et la possibilité d'analyser le traitement de l'information olfactive avant l'expression de la réponse motrice de consommation ou d'évitement de la solution. Il rend donc cette tâche compatible avec l'étude électrophysiologique du traitement d'une information olfactive au cours des différentes phases de l'AOC. En outre, il nous offre la possibilité de mettre en œuvre deux situations expérimentales distinctes :

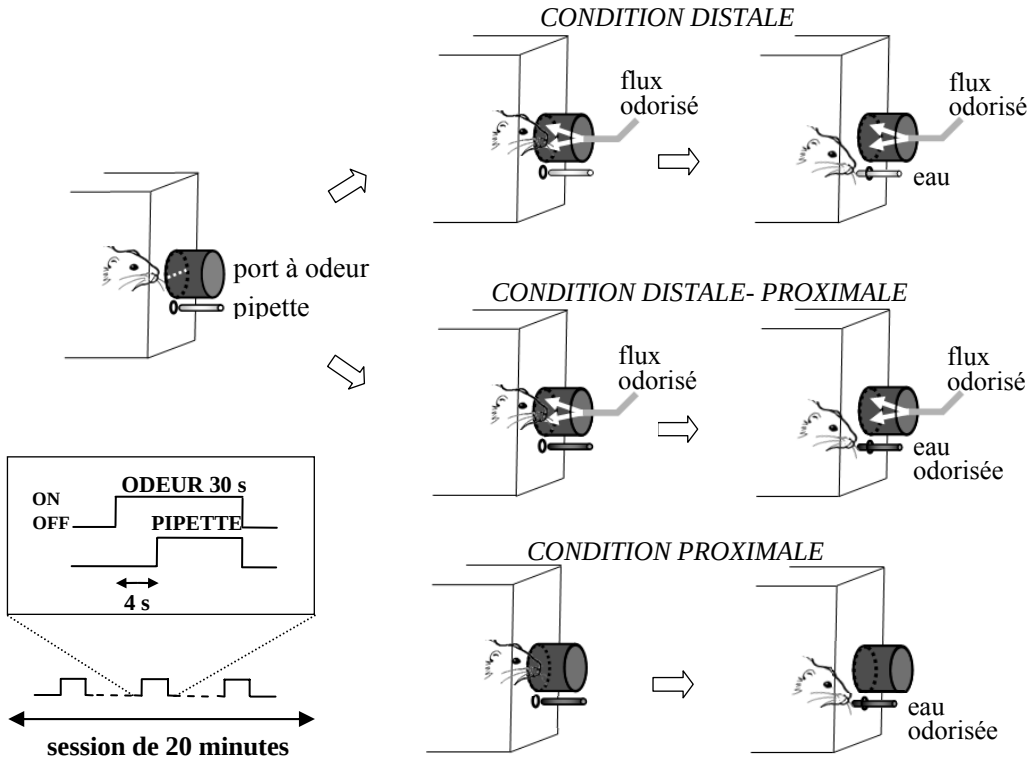


Figure 11. Représentation schématique du dispositif expérimental

La première (***condition distale***) correspond à la situation classiquement utilisée dans les protocoles d'AOC (Hankins *et al.*, 1973 ; Ferry *et al.*, 1996): la stimulation olfactive est seulement délivrée à proximité de l'eau de boisson et l'animal y est exposé, par voie orthonasale, tout le temps de sa consommation. La seconde (***condition distale-proximale***) vise à se rapprocher le plus possible des conditions naturelles de la perception alimentaire en combinant l'exposition orthonasale à la consommation de cette même odeur diluée dans l'eau de boisson, *i.e.* à une stimulation rétronasale. Conformément aux travaux Slotnick *et al.* (1997) La concentration de la solution odorisée utilisée est telle qu'elle ne confère pas à la solution de propriété gustative.

Enfin, une situation supplémentaire (proximale seule) est également envisageable avec ce dispositif mais n'a pas fait l'objet d'investigations spécifiques dans ce travail en raison des contraintes exposées précédemment.

Nos résultats expérimentaux seront présentés dans les sections 1, 2.a et 2.b suivantes. Chaque travail publié ou en cours de soumission sera précédé d'un résumé synthétique. En revanche, les travaux complémentaires à l'étude 1 et les investigations préliminaires de l'étude 2.b. feront l'objet d'une description détaillée.

Etude n° 1

Caractérisation comportementale de l'aversion olfactive conditionnée : modulation par les conditions d'expérience du stimulus conditionnel et influence du délai SC-SI

Comme nous l'avons rapporté dans l'introduction bibliographique, il est possible que l'importance de la perception olfactive dans la mise en place des aversions alimentaires conditionnées ait été sous-estimée en comparaison de la perception gustative. Sur la base des observations de Slotnick *et al.* (1997), mon travail de thèse a donc débuté par la mise au point d'un modèle expérimental d'aversion olfactive conditionnée (AOC) qui permette de tester l'importance du mode d'exposition au stimulus olfactif sur les caractéristiques de l'aversion olfactive qui résulte de son association à un malaise gastrique. En outre, ce modèle expérimental devait tenir compte des contraintes imposées par l'étude électrophysiologique du substrat neuronal de l'AOC que nous voulions réaliser dans un second temps.

Ce travail a fait l'objet d'une publication en 2007 dans la revue *Behavioral Neuroscience*. L'article rend compte des modifications que nous avons du apporter au dispositif expérimental afin de contrôler très précisément la stimulation olfactive et l'accès à la boisson et qui nous a permis de fractionner l'expérience en essais successifs.

Notre but était de préciser en utilisant un cadre expérimental commun l'importance fonctionnelle de la perception olfactive orthonasale (distale) et rétronasale (proximale, au moment de l'ingestion) dans l'acquisition et le rappel d'une AOC.

Dans une première série d'expérience, nous avons confirmé, dans nos conditions expérimentales, que la nature distale ou proximale de la stimulation olfactive pouvait effectivement faire varier la durée du délai qu'il est possible d'introduire entre le SC et le malaise gastrique sans compromettre l'association des deux stimuli. Pour cela nous avons lors du conditionnement fait suivre la présentation du SC (distal ou distal + proximal) d'un malaise gastrique se produisant à des délais de plus en plus longs: 5 min, 1, 2 ou 4 h après la consommation. Les animaux sont testés quelques jours plus tard dans la même configuration que celle utilisée lors du conditionnement. Les résultats montrent que lorsque l'odeur est perçue de manière distale, le développement d'une AOC ne peut être observé que si le malaise a lieu immédiatement après la consommation, corroborant ainsi les observations d'autres auteurs (Hankins *et al.*, 1973 ; Bouton *et al.*, 1986 ; Ferry *et al.*, 1996). En revanche, lorsque l'odeur constitue à la fois un indice distal et proximal de la boisson consommée, une AOC puissante peut être obtenue même lorsque le malaise a lieu deux heures après l'ingestion, ce qui est en accord avec les résultats de Slotnick *et al.* (1997) et a depuis été validé par le travail de Desgranges *et al.* (2009).

Dans la suite des expériences, nous démontrons de façon originale qu'une fois acquise selon le mode distal-proximal, l'AOC peut être rappelée de manière très efficace par le seul indice olfactif distal. En revanche, l'inverse n'est pas possible : si l'odeur n'est pas ingérée lors

du conditionnement et qu'un long délai SC-SI est utilisé, le rat n'exprimera pas d'aversion le jour du test même si l'odeur est ajoutée à l'eau de boisson. Ces résultats soulignent donc l'importance de l'ingestion de l'odeur lors du conditionnement, et amène à se questionner sur la représentation qui s'établit dans la situation distale-proximale et qui permettra par la suite à l'animal de reconnaître la solution toxique sur la base de l'olfaction orthonasale sans avoir à la reconsommer.

Nous nous sommes assurés de la spécificité de l'apprentissage en présentant aux animaux ayant développé une AOC dans les conditions distale ou distale-proximale une odeur différente de celle qui avait constitué le SC. Les résultats montrent qu'une fois acquise, l'aversion est spécifique de l'odeur apprise quelle que soit la façon dont elle a été établie.

Enfin, deux expériences ont été menées pour tester la résistance de cet apprentissage au temps et à une procédure d'extinction. D'une part, nous montrons que l'AOC est toujours aussi forte si l'on teste les animaux 50 jours après qu'ils ont été conditionnés. D'autre part l'extinction totale de cet apprentissage ne peut être obtenue que lorsque la situation de rappel est présentée pendant six jours successifs. Même dans ce cas, lorsqu'on teste à nouveau ces animaux après un délai de 50 jours, on assiste à un phénomène de récupération spontanée de l'AOC qui confirme que l'extinction n'a pas éteint la trace de la première association SC-SI.

En conclusion, malgré les modifications apportées au protocole (fractionnement de la prise de boisson, informations olfactives séquencées…) notre modèle comportemental nous a permis d'aboutir à une AOC puissante, durable et spécifique.

Chapuis J., Messaoudi B., Ferreira G. & Ravel N. (2007)
Importance of orthonasal and retronasal olfaction for food aversion memory in rats.
Behavioral Neuroscience **121** (6) 1383-1392.

Behavioral Neuroscience
2007, Vol. 121, No. 6, 1383–1392

Copyright 2007 by the American Psychological Association
0735-7044/07/$12.00 DOI: 10.1037/0735-7044.121.6.1383

Importance of Retronasal and Orthonasal Olfaction for Odor Aversion Memory in Rats

Julie Chapuis and Belkacem Messaoudi
Centre National de la Recherche Scientifique and Université de Lyon

Guillaume Ferreira
Institut National de la Recherche Agronomique–Centre National de la Recherche Scientifique and Université de Tours

Nadine Ravel
Centre National de la Recherche Scientifique and Université de Lyon

The role of odors in food memory formation, especially for aversions, has long been considered secondary to taste. However, the importance of odor ingestion in conditioned odor aversion (COA) has recently challenged this assumption (B. M. Slotnick, F. Westbrook, & F. M. C. Darling, 1997). The aim of the present study was to evaluate the respective role of orthonasal and retronasal olfactory experience in COA acquisition, long-term retention, extinction, and spontaneous recovery. To this end, the odor was presented either close to the drinking spout (orthonasal stimulation) or close to and mixed with the drinking water (eliciting both orthonasal and retronasal stimulation). The authors brought evidence that odor ingestion was crucial for COA acquisition, especially when odor presentation and gastric malaise were separated by long delays. On the contrary, once formed, a distal (orthonasal) odor recognition was sufficient for COA to be retrieved. COA was odor specific and long lasting (more than 50 days). Moreover, results brought evidence for a spontaneous recovery of odor aversion tested 57 days after its extinction.

Keywords: food aversion, olfaction, retronasal, orthonasal, odor memory

Described for the first time by Pavlov (1927) as a classical conditioning, food aversion learning is based on the association between the sensory properties of food and the negative consequences of its ingestion, such as a gastric malaise. It is interesting that such a natural association could be reproduced experimentally in rats and used as a powerful model of learning. In this paradigm, a novel odor or taste (conditioned stimulus [CS]) is presented in the water usually consumed by the rat. Immediately or some time after, a gastric malaise is experimentally induced by an illness-inducing treatment, generally a systemic administration of the emetic agent lithium chloride (lithium chloride [LiCl]; unconditioned stimulus [US]). This resulted in the acquisition of a conditioned aversion: The rats avoid the solution signaled out by the CS taste or the CS odor (conditioned response). The pioneering work of Garcia and Koelling (1966) revealed food aversion learning was much more original than previously thought. Indeed, their results showed that the subject was able to associate the ingestion of food with the consecutive malaise although the two events were separated by several hours. In this, they invalidated the well-known principle of Pavlov according to which a temporal contiguity between the CS and US was essential to produce a conditioned response.

Trying to dissect the mental processes implicated, Bures and Buresova (1990) proposed that the CS–US association required the storage of the CS in short-term memory so that it could be then associated to the delayed US. Then, the CS–US association could be stored in long-term memory after a consolidation phase until the retrieval occurred when the CS was again presented. It has been claimed that taste was the critical CS for food aversion induction. This was mainly due to the fact that a conditioned taste aversion (CTA) could resist a CS–US delay of several hours (from 2 to 4 hr; Ferry, Oberling, Jarrard, & Di Scala, 1996; Palmerino, Rusiniak, & Garcia, 1980), whereas a conditioned odor aversion (COA) could not be obtained unless this delay was kept very short (less than 15 min; Ferry et al., 1996; Hankins, Garcia, & Rusiniak, 1973). This was reinforced by the experimental demonstration that a gustatory stimulus presented together with the odor potentiated the odor aversion and enabled an odor aversion even with long CS–US delays (2 hr, Palmerino et al., 1980; Rusiniak, Hankins, Garcia, & Brett, 1979). This phenomenon was referred to as taste potentiated

Julie Chapuis and Nadine Ravel, Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS), UMR 5020, Neurosciences Sensorielles, Comportement, Cognition, Lyon, France, and Université de Lyon 1, Lyon, France; Belkacem Messaoudi, CNRS, UMR 5015, Institut des Sciences Cognitives, Bron, France, and Université de Lyon 1, Lyon, France; Guillaume Ferreira, Institut National de la Recherche Agronomique-CNRS, UMR 6175, Physiologie de la Reproduction et des Comportements, Nouzilly, France, and Université de Tours, Nouzilly, France.

This work was supported by CNRS, by the Ministère de la jeunesse, de l'éducation nationale, et de la recherche, and by AROMALIM Grant Agence National de la Recherche-05-PNRA-002. We gratefully acknowledge Jean-Luc Charieau and Fabrice Hérant for their assistance with the animals. We also warmly thank Claire Dawson for a careful review of the English.

Correspondence concerning this article should be addressed to Julie Chapuis, CNRS, UMR 5020, Neurosciences Sensorielles, Comportement, Cognition, 69366 Lyon Cedex 07, France. E-mail: jchapuis@olfac.univ-lyon1.fr

odor aversion. Mechanisms by which a taste potentiates an odor aversion are still debated (for an exhaustive review, see Batsell & Blankenship, 2002). As a consequence, since Garcia and Koelling (1966) the large majority of animal studies related to food aversions were based on CTA and taste potentiated odor aversion and considered that olfaction exerted a less effective control than taste on food intake. However, as stressed by Rozin (1982), "olfaction is the only dual sensory modality, in that it senses both objects in the external world and objects in the body (mouth) . . . the same olfactory stimulation may be perceived and evaluated in two qualitatively different ways depending on whether it is referred to the mouth or the external world" (p. 397). In this sense, the assertion that an odor is a less effective cue for illness could be the consequence of a methodological bias. Indeed, in previous experiments, the olfactory stimulus was delivered close to the solution but was not, as the taste, an intrinsic attribute of the consumed solution itself. However, when consuming a piece of food, we are first naturally exposed to its odor stimulating our olfactory system by the orthonasal route (odorants reaching the olfactory mucosa via the nostrils), and then when the food is introduced in the mouth, olfactory receptors stimulation is achieved by the retronasal route (via the nasopharynx; Pierce & Halpern, 1996).

Rusiniak, Palmerino, Rice, Forthman, and Garcia (1982) and Bouton, Jones, McPhillips, and Swartzentruber (1986) were the first to compare the location of CS odor in COA by presenting almond odor either in the drinking water or in a cup or on a filter paper disk surrounding the drinking spout. They demonstrated that for a CS–US delay of 30 min the odor mixed with the solution was a more effective cue for illness than the same odor located in a cup or a disk surrounding the solution. However, they did not investigate longer CS–US delays, and less precise details were given concerning the possible gustatory properties of the ingested odor. This demonstration was first made by Slotnick et al. (1997). In this study, it was established that the odor of isoamyl acetate used at a specified concentration did not confer any behaviorally detected gustatory sensation to the drinking solution. With this experimental paradigm, the authors showed that when ingested, a pure olfactory stimulus acquired a strong aversive value even for CS–US delays equivalent to the ones generally used for a taste. However, no direct comparison between the two modes of odor presentation was done in this study.

We propose for the first time to compare, in a same and well-controlled experimental framework, the characteristics of COA induced by the odor either presented at a distance from the solution or ingested. In the first experiment, we focused on the effect of increasing CS–US delays and changing odor presentation mode between acquisition and retrieval; we also investigated the long-term retention of learning and its specificity toward the odor used as CS. In the second experiment, we assessed the importance of odor presentation mode on COA extinction and its long-term consequences.

Method

Subjects

Subjects were 67 male SPF Wistar rats (250–300 g) purchased from Charles River Laboratories (L'Arbresle, France). Experiments were performed in accordance with the European Communities guidelines regarding the care and use of animals. Rats were housed in collective cages (4–6 rats per cage). During 1 week of acclimatization to room living conditions (22°C, inverted 12-hr light–dark cycle, 0800–2000) they had access to water and food ad libitum. Their daily access to water was reduced to a 1-hr period at the end of the day.

Behavioral Testing Device

See Figure 1. The experimental arena was a rectangular box ($60 \times 30 \times 40$ cm). A wall of the cage was equipped with an odor delivery device (odor port) allowing odor stimulations that were reproducible and controlled in duration and intensity. Deodorized air constantly flowed through the odor port. Detection of rats' nose pokes by optical detectors triggered odor delivery. Following a nose poke, odorized air was added to the main flow for a given period. Thus, the rat determined odor delivery. A vacuum system ensured that the odor remained confined to the proximity of the port and the drinking delivery device. Indeed, just 1 cm below the odor port, a hole in the cage wall allowed the introduction or withdrawal of a drinking tube. Each lick to the tube by the rat triggered a pump that delivered a calibrated volume of the solution (about 200 μl). The whole device configuration ensured rat exposition to the odor stimulation delivered by the port during the entire liquid consumption. In that way, it could be compared with an odorant source fixed around the water spout that has been used in previous studies. The whole set-up was controlled by a computer. This device was enabled to fix all behavioral parameters: the quality, intensity, and duration of the olfactory stimulation as well as the delay between odor delivery onset and access to the spout.

Experimental Procedure

Habituation. The protocol started with a phase of habituation to the experimental device. During this phase, no odor was delivered, and the drinking solution consisted of water. The first day, rats were placed in the training cage for 20 min, and the drinking spout was made permanently accessible so that they became accustomed to the water delivery device. The second day, the rats were trained to trigger the introduction of the spout in the cage by themselves by positioning their heads into the odor port to interrupt the optical beam. Once triggered, the spout was introduced for 26 s and then automatically retracted. If the rat wanted to drink more it had to trigger the procedure. This phase was aimed to train the rats to fraction their water consumption. The following days, we progressively introduced a delay (up to 4 s) between the interruption of the optical beam and spout introduction to train the rat to wait in front of the odor port before accessing the spout. A refractory period of 5 s after spout retraction was also introduced, during which the rats could not start the system again. The conditioning phase only started when the rats stabilized their water consumption over at least 3 days under these conditions. The water intake measured during these days would be considered as water baseline consumption.

Conditioning sessions. As during habituation, conditioning sessions lasted 20 min. During the first conditioning session, a nose poke in the odor port triggered an odor stimulation for 30 s and, after a 4-s delay, the drinking tube was introduced in the cage for 26 s (see Figure 1). The odor used was isoamyl acetate

(Sigma-Aldrich, France). It was obtained from evaporation of pure compound from saturated granules. At the beginning of the experiment, the percentage of saturated vapor pressure introduced in the airflow was adjusted to 10% to be considered moderate. According to experimental conditions (see below), odor could also be added to water at a concentration of 0.01% (vol/vol) without modifying gustatory properties of the solution (Slotnick et al., 1997). At the end of the conditioning session (and after variable delays; see Experiment 1), rats received either an intraperitoneal injection of LiCl (0.4M, 7.5 ml/kg; Sigma-Aldrich, France), which induced a gastric malaise sensation that lasted several hours, or an equivalent volume of sodium chloride (NaCl, 0.9%, 7.5 ml/kg; Aguettant, France) without any gastric consequence. Rats were then given one recovery session during which they received water, followed by the second conditioning session. Similar CS–US delays were applied for both conditioning sessions. The second conditioning was then followed by 2 days of recovery. These recovery sessions were designed to re-establish water basal consumption and thus to eliminate any lasting effects of LiCl and/or aversion to the context of the experiment (e.g., cage, drinking tube).

Test sessions. The next day came the first test session: All rats were exposed to odor under identical or different conditions as those on conditioning sessions (see the different experimental groups in Table 1). COA is associated with a reduction of fluid consumption during this session. For each session, the total quantity of fluid consumed and the number of times a rat triggered the introduction of the spout were quantified. Another test was realized between 55 to 57 days (see the different experiments) after the first one to evaluate the long-term retention of COA.

Experiment 1

Effects of CS presentation and CS–US interval on COA acquisition. See Table 1 (top). Rats (n = 41) were divided in two groups according to the way the odor was presented to them during the conditioning and the retrieval phases: The distal–proximal odor presentation group (DP/DP; n = 29) received the isoamyl acetate stimulation in the odor port and mixed with water from the licking tube. Thus, in this group, rats were first exposed to the odor alone, exactly as it would be if they were approaching a natural odorized source. Then, they had access to the spout and could ingest the odorized water, and during this time they were exposed to the odor delivered through the port. The distal odor presentation group (D/D; n = 12) received the same isoamyl acetate stimulation

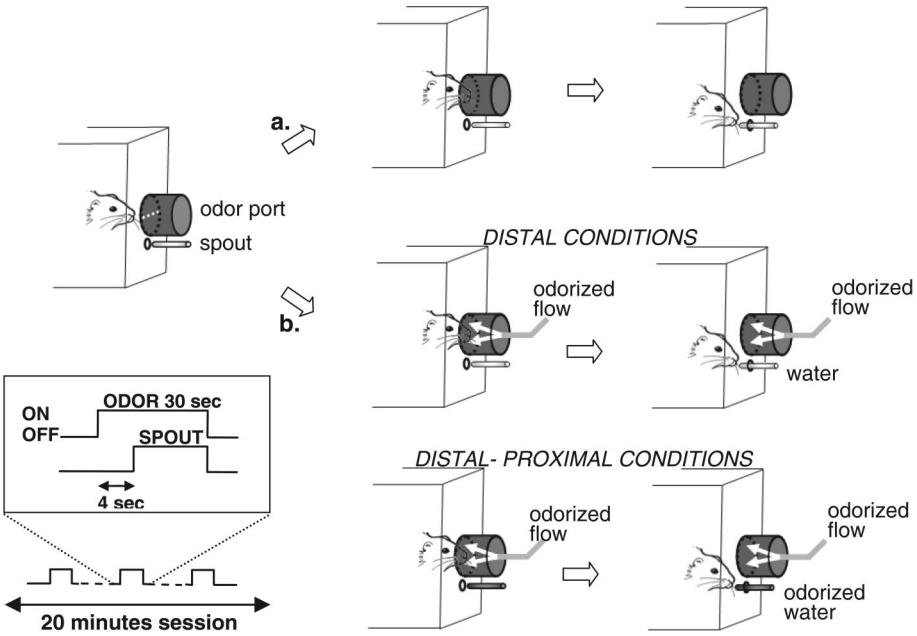


Figure 1. Experimental design. The experimental cage was equipped on the one hand with an odor delivery device (odor port) coupled with an optical detector sensitive to the passage of the rat's nose and on the other hand with a mobile drinking tube (spout). a. Before carrying out conditioned odor aversion (COA) learning, rats were accustomed to fraction their water consumption during a habituation phase (no odor is then introduced). For that, rats were trained to trigger the introduction of the spout in the cage by positioning their head into the odor port to interrupt the optical beam. After a 4-s delay, the spout was introduced for 26-s and then automatically retracted. If the rat wanted to drink more it had to start the procedure again. Once a rat's water consumption has stabilized under these conditions, COA learning could be performed. b. During sessions with olfactory stimulation (see the experimental protocol in Table 1), when the rat cut the optical beam it immediately received a flow of odorized air (isoamyl acetate). Four seconds later, the rat could lick the spout that contained either water alone (distal conditions) or water odorized with isoamyl acetate in solution (distal–proximal conditions), while still remaining stimulated by the distal odor air flow. After 26 s, the odorized flow was stopped and the spout retracted. Several trials were thus realized during the experimental session. In the bottom left-hand corner, the different events happening during one trial are schematized in detail.

Table 1
Experimental Groups According to the Odor Presentation Mode During Conditioning and Retrieval Tests

Group and mode	Conditioning: CS	Conditioning: CS-US delay (min)	Conditioning: *n*	Retrieval test (recent and remote)	Specificity (recent and remote)	Extinction
		Experiment 1				
Experimental						
DP/DP	IA in port + in solution	5	11	IA in port + in solution	Geraniol in port	
		60	6			
		120	6			
		240	6			
D/D	IA in port	5	6	IA in port	Geraniol in port	
		60	6			
DP/D	IA in port + in solution	60	4	IA in port	Geraniol in port	
D/DP	IA in port	60	4	IA in port + in solution	Geraniol in port	
Control						
NaCl	IA in port + in solution	5	6	IA in port + in solution	Geraniol in port	
		Experiment 2				
DP/DP ex.	IA in port + in solution	5	6	IA in port + in solution		IA in port + in solution
DP/D ex.	IA in port + in solution	5	6	IA in port		IA in port

Note. CS = conditioned stimulus, isoamyl acetate odor (IA) at a concentration of 0.01% in solution; US = unconditioned stimulus, a gastric malaise induced with intraperitoneal injection of lithium chloride (LiCl; 0.4 M) except for the control group where sodium chloride (NaCl) was used instead of LiCl; DP = distal and proximal presentation of odor (odor in the port and dissolved in the drinking fluid); D = distal presentation of odor (odor in the port); ex. = extinction.

through the odor port but only drank pure water. For these two groups, conditioning and test sessions were performed exactly in the same conditions.

Moreover, we evaluated in the different groups the resistance of COA to the increase of CS–US interval. This was done by allocating animals of the DP/DP group in four different groups according to the interval between the end of the conditioning session and the LiCl injection (CS–US interval of 5 min, $n = 11$; 60 min, $n = 6$; 120 min, $n = 6$; 240 min, $n = 6$). According to previous results showing no odor aversion after a CS–US delay of 15 min (Ferry et al., 2006), only two delays were used for the D/D group (a short CS–US interval of 5 min, $n = 6$; a long delay of 60 min, $n = 6$). We also had a control group referred to as NaCl group ($n = 6$). This group was treated in the same manner as the DP/DP group with a 5 min CS–US delay except that the LiCl injection was replaced by an equivalent volume of NaCl (0.9%).

Effects of CS presentation on COA acquisition versus retrieval. To determine whether a proximal presentation of the CS (within the ingested solution) was important for the acquisition or the retrieval of the COA, we compared the performance of two additional groups. For these two groups, we used different experimental conditions during the conditioning and the test phase. For the group referred as DP/D ($n = 4$), the rats were conditioned with isoamyl acetate both in the odor port and the drinking solution and were tested with isoamyl acetate in the odor port only. For the group referred to as D/DP ($n = 4$), the rats were conditioned with isoamyl acetate in the port only and tested with the odor both in the port and the drinking solution. Both DP/D and D/DP groups were conditioned with a CS–US of 60 min.

COA specificity. After the first test session (T1), the rats had a session in the habituation conditions without any odor (neither in the odor port nor in the spout). If their water consumption returned to baseline level, they were tested the following day for their aversion toward another odor (geraniol; Sigma-Aldrich, France) presented in the odor port. Water consumption associated to geraniol odor was recorded. The concentration of the geraniol odor in the airflow was fixed at 44% of saturated vapor pressure because this concentration was considered similar in intensity to isoamyl acetate by several experimenters. Isoamyl acetate and geraniol have been reported as two odors easily distinguishable at least by human subjects.

Long-term COA retention and specificity. Following this first series of experiments, the rats remained in their home cage during 50 days with drink and food ad libitum. A 2-day period of readjustment to experimental device was imposed to recover basal level of water consumption (the hydric restriction being reimposed since the previous evening). Isoamyl acetate was then presented again to the rats (under the same conditions previously used during the first test session, 55 days before). Persistence of COA specificity for isoamyl acetate was also confirmed by quantifying the consumption of water associated with geraniol 2 days after the second test.

Experiment 2

Effects of CS presentation on COA extinction and spontaneous recovery. See Table 1 (bottom). All of the rats ($n = 12$) were conditioned with the odor delivered both in the port and the solution (distal–proximal, DP) and received an injection of LiCl 5 min after the end of the session. They were then separated into two groups according to the way COA was tested. For one group (DP/DP extinction [ex.], $n = 6$), the odor was presented exactly as

it was during the conditioning session (both in the port and in the solution), whereas for the other group (DP/D ex., $n = 6$) the odor was presented in the port only, and the rats received pure water. The dynamic of COA extinction was investigated by repeating the testing session the following days until the rats returned to their water basal consumption. Following extinction, the two groups of animals remained during 50 days in their home cage (ad libitum conditions). Then they were deprived of water, readjusted to their basal water consumption, and tested again for their aversion to isoamyl acetate, which was presented in each group in a similar way as in the previous testing session (57 days before).

Statistical analysis. Data analysis consisted in comparing the total quantity of liquid consumed across sessions and experimental groups. In some cases, we also performed analysis on the total number of bouts performed during the sessions. Within-group comparisons were analyzed by Friedman and Wilcoxon signed-rank tests. For a particular experimental session, the different groups of animals were compared with Kruskall–Wallis and Mann–Whitney *U* tests. The statistical significance criterion was set at .05 for all the analyses.

Results

Habituation

On average, 7 days of habituation to the experimental system were necessary for rats to stabilize their water consumption. No significant difference either in their basal level of water intake or in the total number of bouts was noted among the various groups of animals (Kruskall–Wallis test, $p > .05$). For the 67 rats tested, basal water intake was 14 ± 2 ml, distributed on 19 ± 4 bouts for a 20-min session.

Experiment 1

Acquisition and long-term retention of COA. To clarify results presentation, we first describe the learning curve of the experimental group receiving odor simultaneously in the port and in the solution (DP/DP) and LiCl injection 5 min after the end of odor consumption and its matched control group injected with NaCl instead of LiCl (see Figure 2).

Odor conditioning took place once the rats had stabilized their basal water consumption. The first presentation of odorized water was not associated with a significant decrease in fluid consumption in comparison to basal water consumption (Wilcoxon signed-rank test, $p > .05$), indicating no spontaneous aversion or neophobia in response to this odor presented in solution. Even after the gastric malaise was induced (LiCl group), no decrease of fluid consumption was observed either the day after (Recovery 1; recovery day with water) or when odorized water was presented again in the same conditions (Conditioning 2). This was interpreted as a failure to induce COA with a single conditioning session and a second odor–malaise association was performed. The day after (Recovery 2), water consumption in LiCl and control groups began to significantly diverge. The LiCl group exhibited a slight reduction in water consumption compared with the control group (Mann–Whitney *U* test, $p < .05$). However, the next recovery day (Recovery 3), this decrease was not significantly different from their basal consumption, and the water consumption level matched the control group. On the first test session, the LiCl group selectively exhibited a strong and significant decrease of aqueous odor consumption compared with the control group (Mann–Whitney *U* test, $p < .05$) and compared with how much the LiCl group consumed during the first or second conditioning sessions (Wilcoxon, $p < .05$, for both comparisons). This reduction was interpreted as the behavioral demonstration of the acquisition of an effective COA against isoamyl acetate. A new session in the absence of odor (Recovery 4) confirmed the specificity of the induced aversion because water consumption during this session returned to basal value and matched the control group. To assess long-term retention of this learning, we interrupted training for 50 days before a second retrieval test was performed. Again, the LiCl group exhibited a strong COA compared with the control group ($p < .05$) and compared with how much the LiCl group consumed during the first or second conditioning sessions ($p < .05$; see Figure 2).

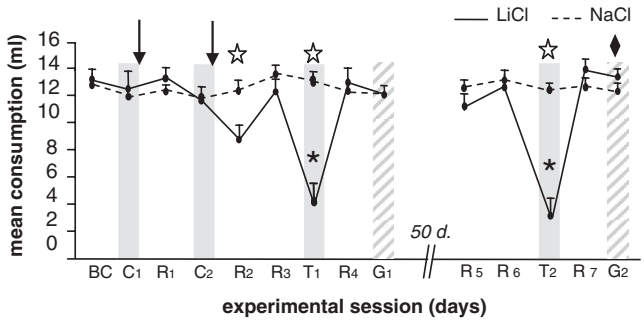


Figure 2. Conditioned odor aversion acquisition and retention: example of the distal–proximal (DP/DP) 5-min group. Mean water consumption for each experimental session for experimental (lithium chloride [LiCl], $n = 11$) and control (sodium chloride [NaCl], $n = 6$) groups. The gray bands indicate sessions performed in presence of odor (opaque for isoamyl acetate, cross-hatched for geraniol) and the arrows the intraperitoneal injections. For the LiCl group, the asterisks point out a significant decrease of consumption between the first presentation of isoamyl acetate (C_1) and the considered retrieval testing sessions ($p < .01$), and the black diamond indicates a significant increase of consumption between the first and the second geraniol sessions ($p < .05$). A star indicates a significant difference between LiCl and control group for recovery Day 2 (R_2; $p < .05$) and for recent retrieval (T_1; $p < .01$) and remote retrieval (T_2; $p < .001$). BC = basal water consumption; C = conditioning; R = recovery; T = retrieval testing; G = geraniol; 50 d. = 50 days. Error bars represent standard error of the mean.

For all of the experimental groups, two CS–US associations were required. No significant difference in fluid intake was reported between the two conditioning sessions Conditioning 1 and Conditioning 2 (Wilcoxon, $p > .05$). This point is discussed below.

Comparisons between DP and D groups showed no difference regardless of the parameter considered (mean water intake or mean number of bouts, Kruskall–Wallis, $p > .05$). Thus, both the number of orthonasal experiences during conditioning and the amount of fluid consumption were equivalent for the DP and D groups (DP group, $n = 39$, mean number of bouts = 18 ± 4, mean consump-

tion = 13 ± 3 ml; D group, $n = 16$, mean number of bouts = 18 ± 4, mean consumption = 14 ± 2 ml).

Effects of CS presentation mode and CS–US interval on COA acquisition. Figure 3a presents for each group the mean water consumption during the first retrieval session (T1), including the DP/DP 5-min and NaCl groups previously described. A clear COA was observed even with a long CS–US delay (up to 120 min) when the odor was presented simultaneously in the port and in the solution (DP/DP groups). This was corroborated by significant differences between these LiCl-treated groups (DP/DP 5-min, 60-min, and 120-min groups) and the NaCl control group (Kruskall–Wallis followed by Mann–Whitney U tests, $p < .05$). However, the strength of the aversion depended on the CS–US delay: COA was stronger with a 5-min CS–US delay than a 120- or 240-min delay ($p < .05$). Moreover, the DP/DP 240-min group did not differ from the control group, indicating that a COA cannot be induced in this condition with a 4-hr CS–US delay.

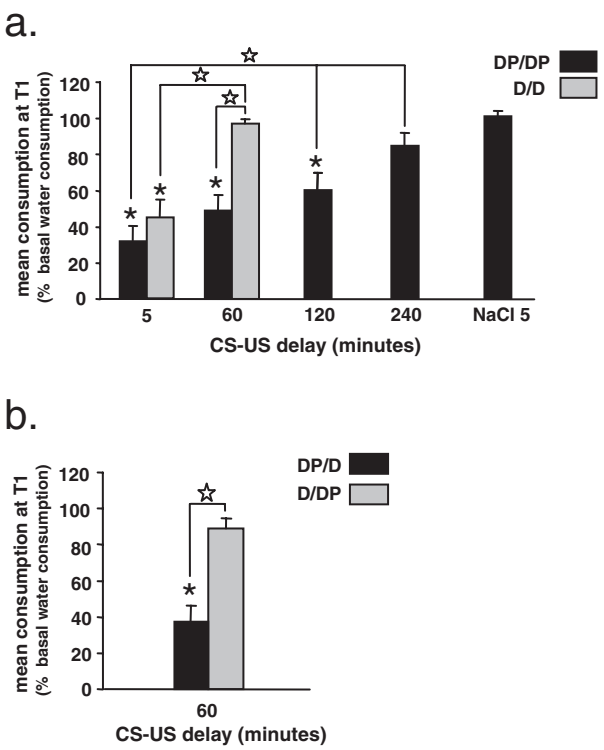


Figure 3. Strength of conditioned odor aversion depends on odor presentation and conditioned stimulus–unconditioned stimulus (CS–US) delay. Mean consumption of odorized water (distal–proximal [DP] conditions) or water (distal [D] conditions) is expressed as a percentage of corresponding basal water consumption. a. The same conditions of odor presentation were used for the conditioning and retrieval sessions. An asterisk indicates consumption differed significantly from the control group (sodium chloride [NaCl], 5 min; $p < .01$). Other significant differences are symbolized by a star: DP/DP 5-min group was different from DP/DP 120- and 240-min groups ($p < .05$), and D/D 60-min group was different from D/D 5-min and DP/DP 60-min groups ($p < .01$). b. The conditions of odor presentation were reversed between the conditioning and the retrieval test. The asterisk shows a significant decrease of consumption from C_1 in the DP/D 60-min group ($p < .05$). The white star indicates a significant difference between the DP/D and D/DP 60-min groups ($p < .05$). T1 = short-term retrieval. Error bars represent standard error of the mean.

It is interesting that intergroup differences were due to the number of rats that had developed an aversion and not to an aversion of a similar strength for all of the rats of a group. Indeed, 100% of rats in the DP/DP 5-min group showed an aversive behavior (i.e., a decrease of at least 50% of their water basal consumption), 83% in the DP/DP 60-min group, 66% in the DP/DP 120-min group, and only 17% in the DP/DP 240-min group.

When the odor was only present in the port and not dissolved in the drinking fluid (odor distal but not ingested; D/D groups), only the rats with a CS–US delay of 5 min developed an aversion ($p < .05$ versus control group), whereas those with a 1-hr CS–US interval did not display any aversion in comparison to NaCl control group (see Figure 3a). Intergroup differences were also linked to the percentage of rats that had developed an aversion (83% in the D/D 5-min group; 0% in the D/D 60-min and control groups).

Comparison of groups with different odor presentation indicated a similar strong COA in both DP/DP and D/D groups with a 5-min CS–US delay ($p > .05$) but a significantly higher aversion in the DP/DP group than in the D/D group with a 60-min interval ($p < .05$; see Figure 3a).

Effects of CS presentation mode on COA acquisition versus retrieval. On the whole, these results pointed out DP odor presentation as a crucial factor for the expression of a strong COA even with long CS–US delays. To determine whether a DP presentation of the CS was important for the COA acquisition or the COA retrieval, we compared the performance of two additional groups of rats conditioned with a CS–US delay of 60 min because this delay dissociated a DP versus D odor presentation in the previous experiment. One group received both the odor in the port and mixed with the solution during the acquisition (DP/D), whereas the other one was conditioned with the odor only in the port and tested with the odor both in the port and mixed with water (D/DP). The results are presented in Figure 3b.

When the odor was given at the same time in the port and mixed with the drinking solution during conditioning, a distal odor presentation was sufficient during the retrieval to allow COA expression (DP/D group). On the other hand, if the odor was not presented mixed with water during conditioning, no aversion was observed on retrieval test session even if isoamyl acetate was incorporated to the solution (D/DP group). Therefore, it seems that a DP odor experience is critical for COA to be acquired with long CS–US delays, but not necessary for the COA to be retrieved.

Long-term retention of COA. See Table 2 (isoamyl acetate sessions columns). As previously described for the DP/DP 5-min group (see Figure 2), when a rat exhibited a COA during the first testing session, it could be retained for at least 50 days. This result was confirmed even if conditioning was performed with longer CS–US delays (DP/DP, 60 and 120 min) or if the retrieval test consisted in a simple distal odor presentation (DP/D, 60 min).

The same intergroup differences were found for the recent (T1) and remote (T2) retrieval sessions. The NaCl 5-min control group significantly differed from the DP/DP 5-min ($p = .001$), 60-min ($p = .006$), 120-min ($p = .04$) and the D/D 5-min ($p = .004$) groups. The LiCl DP/DP 5-min group was different from the DP/DP 120-min ($p < .05$) and 240-min ($p = .004$) groups. The D/D 60-min group was different from the D/D 5-min group and the

Table 2
Mean (± SEM) Consumption of Odorized Water (DP) or Water Associated to Odorized Flow (D)

	Isoamyl acetate (CS odor)			Geraniol (control odor)	
Group	C1	T1	T2	G1	G2
DP/DP 5 min	96 ± 6	31 ± 8**	26 ± 9**	92 ± 4	105 ± 3*
DP/DP 60 min	97 ± 4	52 ± 8*	51 ± 12*	81 ± 14	91 ± 5
DP/DP 120 min	101 ± 10	60 ± 10*	53 ± 16*	94 ± 11	114 ± 8*
DP/DP 240 min	96 ± 3	85 ± 8	86 ± 10	94 ± 3	99 ± 3
D/D 5 min	94 ± 2	45 ± 7**	40 ± 10**	93 ± 3	102 ± 4*
D/D 60 min	86 ± 4	97 ± 3	87 ± 7	95 ± 3	94 ± 4
NaCl 5 min (control)	92 ± 5	101 ± 3	97 ± 2	95 ± 3	95 ± 6
DP/D 60 min	95 ± 2	37 ± 7**	22 ± 6**	101 ± 6	107 ± 7
D/DP 60 min	92 ± 9	89 ± 5	101 ± 3	96 ± 6	103 ± 5

Note. Results obtained with isoamyl acetate (odor used as conditioned stimulus [CS]) or geraniol (control odor) for recent and remote retrieval test. Results are expressed as a percentage of basal water consumption for each group. In columns of data from the isoamyl acetate sessions, an asterisk indicates an aversion against isoamyl acetate on the considered retrieval test (significant decrease of consumption between the first presentation of odor [C1] and the recent [T1] and remote [T2] testing session). In columns of data from the geraniol sessions, an asterisk shows a significant increase of consumption between the recent (G1) and remote (G2) geraniol session. DP = distal and proximal presentation of odor (odor in the port and dissolved in the drinking fluid); D = distal presentation of odor (odor in the port); NaCl = sodium chloride.
* $p < .05$. ** $p < .01$.

DP/DP 60-min group. Last, the DP/D 60-min group was different from the D/DP 60-min group.

Specificity of COA. See Table 2 (geraniol sessions columns). Specificity of COA was assessed using a control odor (geraniol). This was performed by testing the rat behavioral response to a distal presentation of geraniol on the retrieval session and comparing it with what could be observed in response to isoamyl acetate presented in the same way (D/D and DP/D groups). None of the rats that had developed an aversion for isoamyl acetate showed an avoidance of water associated with the first distal presentation of geraniol at G1 (2 days after the first testing session). A similar result was obtained when the test was performed 50 days later (G2; 2 days after the second testing session). Despite a light increase of consumption between the first and second presentation of geraniol in some groups (see Table 2), no significant intergroup differences emerged between these two sessions (Kruskall–Wallis, $p > .05$).

Experiment 2

Effects of CS presentation mode on COA extinction and spontaneous recovery. The extinction curve is presented on Figure 4 for two different groups, both conditioned with the odor in the port and in the solution and using a 5-min CS–US delay. As described above, two CS–US pairings were required to induce the COA. The retrieval test was then performed differently for each group (odor in the port alone for the DP/D ex. group and odor in the port and mixed with the solution for the DP/DP ex. group). On the first testing–extinction session, a strong and similar odor aversion was obtained in both conditions (no intergroup differences). The CS odor presentation was repeated daily for 5 days under the same conditions as the first test session. Both groups extinguished, as indicated by an increased CS consumption from day to day in each group (Friedman and Wilcoxon tests, $p < .05$, for both groups), with a similar time course (Kruskall–Wallis, $p > .05$). Both groups recovered the consumption level of the first conditioning session after 5–6 extinction sessions (see Figure 4).

After COA extinction, a 50-day retention interval was given, and the CS odor was presented again under the same conditions as in extinction (i.e., odor in the port alone for the DP/D ex. group and odor in the port and mixed with the solution for the DP/DP ex. group). A spontaneous recovery of aversion was observed for both groups, with a significant decrease of consumption observed on the second test in comparison to the last day of extinction (E6; $p < .05$ for both groups; see Figure 4).

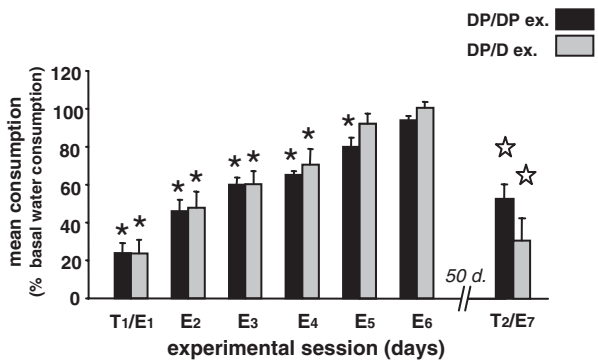


Figure 4. Conditioned odor aversion extinction. Mean consumption of odorized water (distal–proximal [DP] conditions) or water (distal [D] conditions), expressed as a percentage of basal water consumption for each group. Both groups were conditioned with odor presented in port and dissolved in the drinking fluid (DP condition). The method of odor presentation on the test–extinction days was the same as that used on the conditioning sessions in the DP/DP extinction (ex.) groups but different in the DP/D ex. group, in which odor was only presented in the port. The asterisks show a significant difference of consumption between the first conditioning session and the considered retrieval–extinction test session ($p < .05$). The white star indicates a significant difference between the last day of extinction (E_6) and long-term (T_2/E_7) retrieval testing session ($p < .05$). E = extinction; T = retrieval testing; 50 d. = 50 days. Error bars represent standard error of the mean.

Discussion

The purpose of this study was to compare in a same experimental framework the influence of odor presentation mode (i.e., distal [not ingested] and/or proximal [ingested]), on the different phases of a conditioned olfactory aversion (acquisition, retention, and extinction). Our data show that the development of an aversion resisting a CS–US interval of several hours depends on odor ingestion during the conditioning, but not during the retrieval, because a simple distal odor recognition on testing session was sufficient for the rat to avoid the solution. Moreover, when COA was acquired, it was long lasting (50 days) and specifically directed against the odor used as the CS.

Advantage and Limitation of the Methodological Approach

In previous paradigms devoted to studying COA, two different conditions of odor stimulation have been reported: either a distal presentation alone (the odor was generally dropped onto a filter paper, e.g., Bermudez-Rattoni et al., 1983; Ferry et al., 1996; Inui, Shimura, & Yamamoto, 2006; Palmerino et al., 1980; a cup surrounding the solution, Bouton et al., 1986) or a proximal presentation alone (the odor was mixed with the water, Bouton et al., 1986; Inui et al., 2006; Slotnick et al., 1997) without behaviorally detected gustatory sensation (Slotnick et al., 1997). However, as stressed by Inui et al. (2006), this last method necessarily produces both orthonasal and retronasal stimuli because the rat perceives the odor in a distal way just before drinking. In contrast to the classical paradigms in which the subject is generally free to consume a solution during the whole session, we used an experimental paradigm in which CS exposure was controlled and fractioned. Each CS exposure was determined by the rat itself but was entirely controlled in terms of duration. During the first 4 s of each trial, all of the rats, regardless of the experimental group, received exactly the same distal (i.e., orthonasal) presentation of the odor CS. Then, each group had access to its respective solution, water alone or odorized water (i.e., retronasal odor) still remaining exposed to the distal olfactory stimulation. This modification of COA gave us the opportunity to easily handle the various conditions of olfactory stimulation. Regarding odor ingestion, long delay learning could be due to prolonged exposition to olfactory stimulus in the mouth. However, as discussed by Garcia, Hankins, Robinson, and Vogt (1972) and Galef, Hankins, and Rusiniak (1976), long-delay learning cannot be accounted for by a lingering trace of flavor at the time of illness by food returned to the mouth. Thus, differences between D and DP groups seem rather related to different stimulus perception and processing during the liquid consumption.

In the present study, two conditioning sessions were necessary to establish a reliable COA, whereas other studies have reported COA presence after only one CS–US pairing (Ferry et al., 1996; Slotnick et al., 1997). The main difference concerns the housing condition of the rats. Contrary to the other studies, our rats were housed in groups during the entire experimental protocol. In our experimental condition, whereas grouped rats required two conditioning sessions to acquire COA, only one CS–US experience was sufficient for individually housed rats to acquire the COA, regardless of the way they were conditioned (data not shown). Such a facilitation of some learning processes by isolation rearing has already been reported in Pavlovian conditioned inhibition task (Harmer & Phillips, 1998) or place and reversal learning in a Morris water maze task (Wongwitdecha & Marsden, 1996). The difference between grouped and isolated rats may reside on the conditioning day. Indeed, despite the fact that treated and nontreated rats were never mixed, once injected, rats were placed together again and could observe the others during the malaise. Galef and colleagues have clearly demonstrated the existence of a social transmission of food preference between two rats (Galef, Wigmore, & Kennett, 1983) but never a social transmission of food aversion (Galef & Whiskin, 2000, see also Noble, Todd, & Tuci, 2001). In reference to this literature, each rat in our study could be at the same time the demonstrator and the observer. However, in the social transmission of food preference paradigm the observer never consumes the food. Our case differed also from the *poisoned partner effect* (Batsell, Caperton, & Paschall, 1999; Lavin, Freise, & Coombes, 1980), in which the observer effectively consumes the solution but is not poisoned. It is possible that in our conditions the grouped rats did not develop a COA after the first CS–US pairing because of complex and unknown social interference after the pairing. This result would thus deserve further experiments; however, it does not invalidate the impact of the odor presentation mode on the acquisition and stability of COA because all of the compared experimental groups were subject to two CS–US exposures.

Odor Ingestion Is Crucial for a Correct CS–US Association During Conditioning

It has been previously reported that COA is more sensitive to long CS–US delays than CTA (Ferry et al., 1996; Hankins et al., 1973). Our results confirm that when the odor is not an intrinsic characteristic of the drink (distal condition), COA only takes place for short CS–US intervals (up to 60 min). The present study also demonstrated that this delay could be increased (at least to 2 hr) in case of odor ingestion (i.e., both a distal and proximal odor presentation; results in agreement with Slotnick et al., 1997). According to the literature, only three studies made direct comparisons between the effect of distal and proximal olfactory stimulation on COA acquisition. Our results are consistent with the first two of these studies (Bouton et al. 1986; Rusiniak et al., 1982): For short CS–US delays, no difference was observed between the two modes of odor presentation, whereas for higher delays (30 min, Bouton et al., 1986, and Rusiniak et al., 1982; 60 min, the current study), results began to significantly diverge. However, these data are in contradiction with the third study (Inui et al. 2006), which failed to induce an aversion at 30 min regardless of the odor delivery mode. However, Inui et al. (2006) used a lower isoamyl acetate concentration (0.001%) than we did, and the effectiveness of an aqueous odor for illness was directly related to its concentration, as previously reported by Slotnick et al. (1997).

Our results confirm the importance of CS ingestion for the development of a strong and stable COA. As suggested by Slotnick et al. (1997), odors introduced directly into the mouth could be as effective as taste stimuli to induce food aversions. This seems to corroborate Rozin's (1982) hypothesis, that is, that retronasal and orthonasal olfaction would represent qualitatively distinct sensory experiences because they refer to the mouth or to the external

world. Possible reasons for such a difference could be based on various psychophysical studies on humans. The first one is illustrated by the classic sensory confusion induced by the presentation of olfactory stimuli in aqueous solution, which results in the interpretation of the sensation as a taste rather than as an odor (Murphy, Cain, & Bartoshuk, 1977). More direct comparisons between orthonasal and retronasal odorants have shown differences at several levels of perception. First, at the level of intensity, it has been reported that an orthonasal odorant is perceived as more intense than the same odorant given via the retronasal route for both food and nonfood odors (Hummel et al., 2006; Small, Gerber, Mak, & Hummel, 2005). Second, at the level of identification, orthonasal odorants are generally easier to recognize than retronasal ones (Pierce & Halpern, 1996; Rozin, 1982; Sun & Halpern, 2005). Third, at the level of spatial localization, the subjects are able to perceive retronasal odorants as arising from the oral cavity and orthonasal odorants as coming from the tip of the nose (Murphy et al., 1977; Rozin, 1982), and this even if somatosensory and trigeminal clues are nonexistent (Heilmann & Hummel, 2004; Small et al., 2005). Thus, these behavioral data suggest an initial difference of perception both quantitatively and qualitatively between an orthonasal and a retronasal experience of the same odorant. At a neurophysiological level, complex differences in neuronal activation patterns have also been suggested from the entrance of the olfactory system, because the nature and direction of odorant flow across the olfactory mucosa could be important factors in the discrimination of odorants (Mozell, 1966, 1970; Scott, Acevedo, Sherrill, & Phan, 2007). Finally, these differences of neural activations have also been reported by human neuroimagery studies on higher levels of olfactory information treatment (Cerf-Ducastel & Murphy, 2003; Small et al., 2005). Precautions for interspecies comparisons considered, the above-mentioned findings constitute an interesting research track that could explain why a proximal odor is better associated with the subsequent malaise. Indeed, in reference to the trace conditioning paradigm, it has been proposed that the COA is supported by the association between the short-term memory of the CS (i.e., the odor) and the US (see Ferry et al., 1996). According to this view, our results indicate that the proximal odor is stored in a more effective way in short-term memory than is the distal odor.

In the second part of the first experiment, the effects of odor presentation on COA acquisition versus retrieval were assessed: Retronasal olfaction was important to associate eating a novel odorant food with a subsequent gastric malaise (see Figure 3a), whereas orthonasal olfaction allowed food avoidance without consumption (see Figure 3b). As Pierce and Halpern (1996) have already suggested, rather than a duality that would imply that orthonasal and retronasal olfaction are two completely separated olfactory systems, our data put ahead an ecological complementarity between these two olfactory stimulations that would be set up through learning. It remains to be evaluated if orthonasal and retronasal odor and gastric malaise form a complex compound as previously proposed for taste, odor, and gastric malaise in taste potentiated odor aversion (for a review, see Batsell & Blankenship, 2002).

A Specific and Long-Lasting Memory

Concerning the specificity of learning, our results clearly showed that the rat did not generalize the aversion to another odor. Because it has been previously demonstrated that geraniol can be associated with a gastric malaise in a taste potentiated odor aversion framework (e.g., Dardou, Datiche, & Cattarelli, 2006), this odor was chosen to constitute an appropriate control in this experiment. However, we decided to present it only via a distal way because its gustatory properties in solution were unknown. Although this point could be contestable as regard to DP groups, it is important to note that the D 5-min group (for which isoamyl acetate was always distal) or the DP/D 60-min group (for which isoamyl acetate was distal for retrieval) did not show generalization either. Moreover, we have previously argued that a distal recognition alone could be sufficient for the rat to decide to avoid a dangerous solution; it would be thus as important for a rat to recognize at a distance that another stimulus given in the same context is without danger: This discrimination is indeed the basis of an adaptive food behavior. Geraniol and isoamyl acetate are two odors easy to distinguish; it would be interesting in the future to test up to which point this specificity is preserved for perceptually closer odors.

Its maintenance on a long-term period represents an added original aspect of food aversion learning. Berman, Hazvi, Stehberg, Bahar, and Dudai (2003) have previously shown that a CTA could be held in memory for many months without decay in the absence of experimental extinction. We confirmed the long-term retention of the COA, because after 55 days the aversion remained as strong as it was for the recent retrieval. Nevertheless, this robustness to time did not seem to depend on the way the aversion was acquired (odor D or DP).

Odor Ingestion Is Crucial for the Long-Term Retention of the Extinction

The extinction process was described as the decline in the expression of a conditioned response consecutive to repeated exposure to the CS not followed by the US (Pavlov, 1927). However, as discussed by Bahar, Samuel, Hazvi, and Dudai (2003), "experimental extinction does not reflect an erasure or unlearning of the original trace, but rather a relearning process, in which the new association of the conditioned stimulus with the absence of the original reinforcer comes to control behaviour" (p. 1527). The associated phenomenon called spontaneous recovery constitutes one of behavioral evidence in favor of this assertion. It corresponds to the reappearance of the extinguished conditioned response with the passage of time following extinction, in the absence of any further explicit training (Berman et al., 2003; Myers & Davis, 2002; Rescorla, 2004). Spontaneous recovery has been reported in a variety of classical conditioning paradigms and in particular after CTA extinction (Berman et al., 2003; Rosas & Bouton, 1996). Demonstrating spontaneous recovery after COA extinction, we indicated that odor presentation mode modulated this behavior. We demonstrated an absence of difference in the extinction acquisition according to the two odor presentation modes (5 to 6 consecutive testing days were required to extinguish any behavioral manifestation of aversion to the CS).This result suggested the new CS (odor)–no US association is also independent of odor ingestion.

Future Directions

The possibility that an odor is memorized and associated with postingestive consequences depends on the way it is experimented

during food intake. Pointing to the link existing between perception and memorization, these behavioral considerations raised fundamental questions: What kind of process elicited by odor ingestion should account for an easier COA development? Could it be possible for odor short-term memory trace to be more robust when the odor is ingested? And finally, would it mean that different neural networks are involved in odor processing according to its ingestion or not? The behavioral model described in the present study turned out to be well-suited to address these points in the future.

References

Bahar, A., Samuel, A., Hazvi, S., & Dudai, Y. (2003). The amygdalar circuit that acquires taste aversion memory differs from the circuit that extinguishes it. *European Journal of Neuroscience, 17,* 1527–1530.

Batsell, W. R., & Blankenship, A. G. (2002). Beyond potentiation: Synergistic conditioning in flavor-aversion learning. *Brain & Mind, 3,* 383–408.

Batsell, W. R., Caperton, J., & Paschall, G. (1999). Olfactory transmission of aversive information in rats. *The Psychological Record, 49,* 459–474.

Berman, D. E., Hazvi, S., Stehberg, J., Bahar, A., & Dudai, Y. (2003). Conflicting processes in the extinction of conditioned taste aversion: Behavioral and molecular aspects of latency, apparent stagnation, and spontaneous recovery. *Learning & Memory, 10,* 16–25.

Bermudez-Rattoni, F., Rusiniak, K. W., & Garcia, J. (1983). Flavor-illness aversions: Potentiation of odor by taste is disrupted by application of novocaine into amygdala. *Behavioral and Neural Biology, 37,* 31–75.

Bouton, M. E., Jones, D. E., McPhillips, S. A., & Swartzentruber, D. (1986). Potentiation and overshadowing in odor-aversion learning: Role of method of odor presentation, the distal–proximal cue distinction, and the conditionability of odor. *Learning & Motivation, 17,* 115–138.

Bures, J., & Buresova, O. (1990). Reversible lesions allow reinterpretation of system level studies of brain mechanisms of behavior. *Concepts in Neuroscience, 1,* 69–89.

Cerf-Ducastel, B., & Murphy, C. (2001). fMRI activation in response to odorants orally delivered in aqueous solutions. *Chemical Senses, 26,* 625–637.

Dardou, D., Datiche, F., & Cattarelli, M. (2006). Fos and Egr1 expression in the rat brain in response to olfactory cue after taste-potentiated odor aversion retrieval. *Learning & Memory, 13,* 150–160.

Ferry, B., Oberling, P., Jarrard, L. E., & Di Scala, G. (1996). Facilitation of conditioned odor aversion learning by entorhinal cortex lesions in the rat. *Behavioral Neuroscience, 110,* 443–450.

Galef, B. G., & Whiskin, E. E. (2000). Demonstration of a socially transmitted flavor aversion in rats? Kuan and Colwill (1997) revisited. *Psychonomic Bulletin & Review, 7,* 631–635.

Galef, B. G., Wigmore, S. W., & Kennett, D. J. (1983). A failure to find socially mediated taste aversion learning in Norway rats (R. norvegicus). *Journal of Comparative Psychology, 97,* 358–363.

Garcia, J., Hankins, W. G., Robinson, J. H., & Vogt, J. L. (1972). Bait shyness: Tests of CS–US mediation. *Physiology & Behavior, 8,* 807–810.

Garcia, J., Hankins, W. G., & Rusiniak, K. W. (1976, April 16). Flavor aversion studies. *Science, 192,* 265–266.

Garcia, J., & Koelling, R. (1966). Learning with prolonged delay of reinforcement. *Psychonomic Science, 5,* 121–122.

Hankins, W. G., Garcia, J., & Rusiniak, K. W. (1973). Dissociation of odors and taste in baitshyness. *Behavioral Biology, 8,* 407–419.

Harmer, C. J., & Phillips, G. D. (1998). Isolation rearing enhances acquisition in a conditioned inhibition paradigm. *Physiology & Behavior, 65,* 525–533.

Heilmann, S., & Hummel, T. (2004). A new method for comparing orthonasal and retronasal olfaction. *Behavioral Neuroscience, 118,* 412–419.

Hummel, T., Heilmann, S., Landis, B., Reden, J., Frasnelli, J., Small, D. M., et al. (2006). Perceptual differences between chemical stimuli presented through the ortho- or retronasal route. *Flavour & Fragrance Journal, 21,* 42–47.

Inui, T., Shimura, T., & Yamamoto, T. (2006). Effects of brain lesions on taste-potentiated odor aversion in rats. *Behavioral Neuroscience, 120,* 590–599.

Lavin, M. J., Freise, B., & Coombes, S. (1980). Transferred flavour aversions in adult rats. *Behavioral and Neural Biology, 28,* 15–33.

Mozell, M. M. (1966). The spatiotemporal analysis of odorants at the level of the olfactory receptor sheet. *Journal of General Physiology, 50,* 25–41.

Mozell, M. M. (1970). Evidence for a chromatographic model of olfaction. *Journal of General Physiology, 56,* 46–63.

Murphy, C., Cain, W. S., & Bartoshuk, L. M. (1977). Mutual action of taste and olfaction. *Sensory Processes, 1,* 204–211.

Myers, K. M., & Davis, M. (2002, November 14). Behavioral and neural analysis of extinction. *Neuron, 36,* 567–584.

Noble, J., Todd, P. M., & Tuci, E. (2001). Explaining social learning of food preferences without aversions: An evolutionary simulation model of Norway rats. *Proceedings of the Royal Society of London, Biological Sciences, 268,* 141–149.

Palmerino, C. C., Rusiniak, K. W., & Garcia, J. (1980, May 16). Flavor-illness aversions: The peculiar roles of odor and taste in memory for poison. *Science, 208,* 753–755.

Pavlov, I. P. (1927). *Conditioned reflexes: An investigation of the physiological activity of the cerebral cortex.* Oxford: Oxford University Press.

Pierce, J., & Halpern, B. P. (1996). Orthonasal and retronasal odorant identification based upon vapor phase input from common substances. *Chemical Senses, 21,* 529–543.

Rescorla, R. A. (2004). Spontaneous recovery. *Learning & Memory, 11,* 501–509.

Rosas, J. M., & Bouton, M. E. (1996). Spontaneous recovery after extinction of a conditioned taste aversion. *Animal Learning & Behavior, 24,* 341–348.

Rozin, P. (1982). "Taste-smell confusions" and the duality of the olfactory sense. *Perception & Psychophysics, 31,* 397–401.

Rusiniak, K. W., Hankins, W. G., Garcia, J., & Brett, L. P. (1979). Flavor-illness aversions: Potentiation of odor by taste in rats. *Behavioral and Neural Biology, 25,* 1–17.

Rusiniak, K. W., Palmerino, C. C., Rice, A. G., Forthman, D. L., & Garcia, J. (1982). Flavor-illness aversions: Potentiation of odor by taste with toxin but not shock in rats. *Journal of Comparative and Physiological Psychology, 96,* 527–539.

Scott, J. W., Acevedo, H. P., Sherrill, L., & Phan, M. (2007). Responses of the rat olfactory epithelium to retronasal air flow. *Journal of Neurophysiology, 97,* 1941–1950.

Slotnick, B. M., Westbrook, F., & Darling, F. M. C. (1997). What the rat's nose tells the rat's mouth: Long delay aversion conditioning with aqueous odors and potentiation of taste by odors. *Animal Learning & Behavior, 25,* 357–369.

Small, D. M., Gerber, J. C., Mak, Y. E., & Hummel, T. (2005, August 18). Differential neural responses evoked by orthonasal versus retronasal odorant perception in humans. *Neuron, 47,* 593–605.

Sun, B. C., & Halpern, B. P. (2005). Identification of air phase retronasal and orthonasal odorant pairs. *Chemical Senses, 30,* 693–706.

Wongwitdecha, N., & Marsden, C. A. (1996). Effects of social isolation rearing on learning in the Morris water maze. *Brain Research, 715,* 119–124.

Received February 28, 2007
Revision received July 6, 2007
Accepted July 26, 2007 ■

Etude n° 2

Le rappel d'une aversion olfactive engage t'il des réseaux cérébraux différents en fonction du mode de présentation de l'odeur lors de l'acquisition ?

Les résultats de notre étude comportementale suggèrent l'idée qu'un même stimulus pourrait-être représenté de façon différente au niveau d'un réseau de structures cérébrales en fonction du type d'expérience que l'animal en a fait. Nous avons observé que dans le cas des animaux conditionnés de manière distale, le stimulus a pu être associé au malaise gastrique à condition que ce dernier soit immédiat. Le même stimulus expérimenté de façon distale-proximale a pu être associé au malaise même lorsque celui-ci est différé. Il nous est donc apparu particulièrement intéressant de comparer les circuits neuronaux impliqués dans le traitement de ce stimulus dans ces deux conditions afin d'obtenir des données qui justifient les différences comportementales observées. Ceci constitue l'objet de cette seconde série d'expérience.

D'un point de vue comportemental, nous nous sommes placés dans une configuration telle que l'odeur puisse être associée à un malaise gastrique quelque soit la façon dont elle est expérimentée le jour du conditionnement, c'est-à-dire en situation de délai SC-SI très court ; nous avons pour cela constitué deux groupes d'animaux qui ont, le jour du conditionnement, expérimenté l'odeur soit de manière distale soit de manière distale-proximale et qui ont été rendus malades dans les 5 minutes suivant la fin de leur consommation. Après une période de récupération de deux jours, le stimulus conditionnel a été représenté aux animaux sous la forme distale seule. Notre précédente étude ayant montré qu'une présentation distale était suffisante lors du test, il nous a en effet paru intéressant de se placer dans une situation de rappel où les deux groupes d'animaux avaient à disposition le même indice pour reconnaître la boisson toxique. Il a suffit d'un seul appariement SC-SI pour que les deux groupes développent une très bonne aversion à l'odeur s'exprimant par une chute de plus de 50 % de la consommation lors du test par rapport au conditionnement.

Pendant les phases comportementales, nous avons recueilli en parallèle sur le même animal les activités de potentiel de champ local (PCL) de huit zones cérébrales différentes. Ces potentiels ont été enregistrés directement dans la structure cible et témoignent de l'activité d'une petite population neuronale située à proximité de la pointe de l'électrode d'enregistrement.

Le contenu fréquentiel de ces signaux a été analysé afin de détecter des activités oscillatoires particulières qui, comme nous l'avons montré dans des études antérieures, semblent associées à la fois à des changements de comportement de l'animal et aussi du fonctionnement des réseaux neuronaux induits par apprentissage. Nous avons ensuite suivi les changements de puissance de

ces régimes oscillatoires en réponse au stimulus conditionnel dans les deux conditions expérimentales définies et dans plusieurs régions cérébrales :

- les régions olfactives : le **bulbe olfactif** (BO) et le **cortex piriforme** (CP) ; dans le CP deux sites ont été choisis puisque les études antérieures de l'équipe avaient permis de renforcer l'idée d'une éventuelle dissociation fonctionnelle entre les parties antérieure (CPA) et postérieure (CPP) de ce cortex (Chabaud *et al.*, 2000).
- l'**amygdale basolatérale** (BLA)
- le **cortex insulaire** (CI) ; dans cette structure corticale, deux sous-régions ont été enregistrées en raison de leur spécificité rapportée dans la littérature : la zone agranulaire (CIA) qui contient des neurones répondant à des stimulations odorantes et la zone granulaire (CIG) qui constitue le cortex gustatif et traite aussi de la sensibilité viscérale (Sewards & Sewards, 2001).
- le **cortex orbitofrontal** (COF)
- le **cortex préfrontal médian**, en particulier la région infralimbique (IL).

La pertinence de l'analyse des activités oscillatoires dans ces différentes régions découle de leur organisation corticale ou d'observations antérieures à notre travail aussi bien dans les voies olfactives (Cf. Introduction), que dans l'amygdale (Paré *et al.*, 2002 ; Jung *et al.*, 2006), le cortex insulaire (Fontanini & katz, 2004), le cortex orbitofrontal (McCracken & Grace, 2007) et le cortex préfrontal médian (van Aerde *et al.*, 2008).

Grâce au logiciel d'analyse vidéo *Volcan* développé par M. Thévenet au laboratoire, nous avons pu délimiter de façon précise les phases des tracés électrophysiologiques correspondant à l'analyse de l'indice olfactif distal. Pour cela, nous avons traité les signaux vidéo en déterminant, sur les 4 premières secondes de chaque essai, les phases pendant lesquelles l'animal était réellement en train d'échantillonner l'odeur à distance. Nous avons ensuite centré notre analyse de recherche des bouffées oscillatoires sur ces périodes temporelles pour pouvoir les mettre sans ambigüité en relation au traitement cérébral du stimulus olfactif avant l'expression de la réponse motrice de consommation ou d'évitement. Ces analyses ont été effectuées grâce au logiciel *OpenElectrophy* développé au laboratoire par S. Garcia. Il permet, pour chaque essai et chaque site d'enregistrement, d'extraire le contenu spectral du signal via une décomposition en ondelette de Morlet puis de déterminer dans les différentes bandes de fréquence les lignes de crêtes des bouffées oscillatoires signifiantes (*i.e.* émergeant au dessus du seuil d'énergie de la ligne de base). Pour chaque oscillation détectée, nous recueillons ses

caractéristiques temporelles (durée, latence), son amplitude, sa fréquence instantanée et sa phase instantanée.

Deux séries d'analyses ont été effectuée dans le cadre de cette étude et seront présentées dans cette section :

✓ Une première analyse (étude 2.a) concerne les changements de puissance des activités oscillatoires en réponse au SC olfactif sein des différentes aires enregistrées au cours des phases d'acquisition et de rappel de l'AOC. Ces travaux font l'objet d'une publication actuellement en cours de revue à *Journal of Neuroscience*.

✓ Une seconde étude (étude 2.b.) présente les synchronisations oscillatoires se produisant entre les aires cérébrales enregistrées au cours des différentes phases comportementales de l'AOC. Les données obtenues dans ce cadre font encore l'objet d'analyses complémentaires et seront présentées sous la forme de travaux préliminaires.

Etude 2.a. Caractérisation des changements de dynamique oscillatoire associée à l'aversion olfactive conditionnée au sein de chaque structure

Le jour du conditionnement, la perception d'une odeur biologiquement neutre est corrélée avec la manifestation d'oscillations dans la bande de fréquence beta (15-40 Hz). Ces résultats corroborent les précédentes observations de l'équipe dans le BO et le CP et les étendent à d'autres aires cérébrales : le BLA, le COF et l'IL. Dans le cortex insulaire, seule la zone agranulaire voit son activité oscillatoire modifiée par l'échantillonnage de l'odeur, également sous la forme d'une émergence de bouffées beta. Ce jour là, nous n'avons observé aucune différence entre les groupes expérimentaux dans l'expression de la réponse beta à l'odeur distale.

Le jour du rappel de l'AOC, l'expression des bouffées oscillatoires beta induites par l'odeur est très fortement amplifiée par rapport au conditionnement et s'exprime différemment au sein des structures dans les différents groupes expérimentaux :

- **L'amplification de l'activité beta après apprentissage est finement corrélée au comportement aversif :**

- une analyse essai par essai montre que l'expression de bouffées oscillatoires de forte amplitude lors de l'échantillonnage distal de l'odeur est prédictive du comportement aversif ultérieur du rat ; ainsi lorsque l'odeur est déclenchée et qu'elle induit une réponse oscillatoire clairement visible pendant la période d'échantillonnage de l'indice olfactif distal, nous avons pu observer de manière très reproductible que le rat n'allait pas (ou quasiment pas) consommer par la suite la boisson lorsque la pipette devenait accessible.

- ce type d'amplification n'est pas observé en réponse à une odeur autre que le SC
- ce type d'amplification n'est pas observé chez des animaux contrôles ou chez des animaux conditionnés mais qui n'ont pas développé d'aversion vis-à-vis du SC.
- le SC n'induit plus ce type d'amplification après extinction de l'apprentissage

L'émergence d'une activité oscillatoire beta de forte amplitude semble donc finement corrélée à la signification comportementale que l'odeur a acquise par apprentissage ; ces résultats confirment les précédents travaux de l'équipe (Martin *et al.*, 2004a) et positionnent cette activité comme la possible signature neuronal du réseau impliqué dans le rappel de l'AOC.

- **La topographie de l'amplification de l'activité beta après apprentissage sur le réseau de structures étudié est dépendant du mode de présentation de l'odeur le jour du conditionnement:**

- chez les animaux ayant été conditionnés en mode distal seul, on observe lors du rappel une augmentation significative de puissance de l'activité beta dans le BO, le CP (CPA et CPP), le COF et de façon encore plus prononcée dans BLA.
- Ces mêmes activations sont reproduites chez les animaux conditionnés en mode distal-proximal ; en revanche on observe en plus chez ces derniers une augmentation de puissance des activités oscillatoires beta du cortex infralimbique et du cortex insulaire agranulaire et granulaire.

La figure 13 page suivante résume sous forme de diagramme les différents effets observés (et présentés en détails dans la publication ci-après).

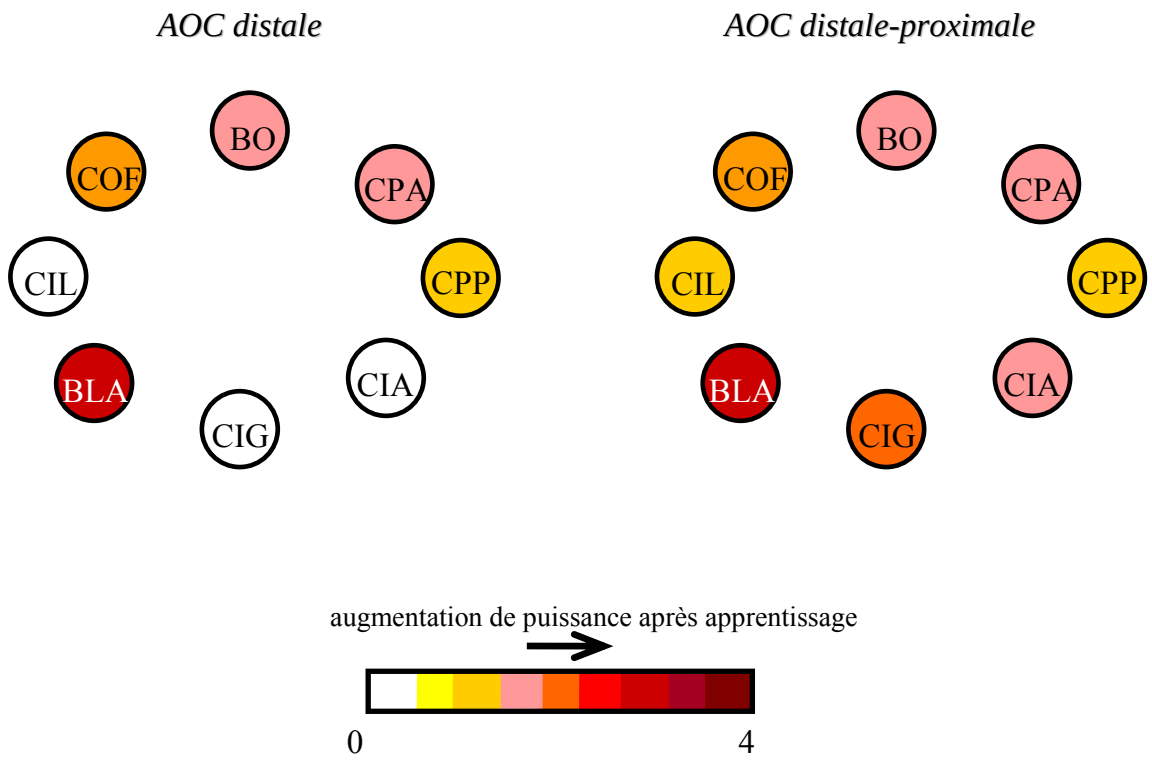


Figure 13. Diagramme représentant l'augmentation de la puissance des oscillations beta (15-40 Hz) en réponse à l'odeur induite par l'apprentissage d'une AOC distale ou distale-proximale. Les résultats sont représentés sous la forme d'un ratio de puissance des bouffées beta lors du rappel par rapport au conditionnement: pour chaque structure considérée, le code couleur indique le degré de cette amplification.

De manière originale, cette étude suggère que le réseau de structures cérébrales activées par le SC lors du rappel peut être déterminé par la façon dont l'odeur a été présentée à l'animal lors du conditionnement. Ainsi, le fait que l'animal ait ingéré l'odeur lors du conditionnement conduit à l'engagement d'un réseau cérébral plus large et pourrait expliquer pourquoi il est possible que la trace mnésique de l'odeur proximale soit conservée de manière plus efficace lorsque la consommation est suivie d'un malaise différé. Le rôle fonctionnel que pourrait jouer chacune de ces structures est discuté.

Chapuis J., Garcia S., Messaoudi B., Thevenet M., Ferreira G., Gervais R. & Ravel N.
The way an odor is experienced during aversive conditioning determines the extent of the network recruited during retrieval: A multisite electrophysiological study in rats.
En révision à Journal of Neuroscience

The way an odor is experienced during aversive conditioning determines the extent of the network recruited during retrieval: A multisite electrophysiological study in rats.

J. Chapuis [1], S. Garcia [1], B. Messaoudi [1], M. Thevenet [1], G. Ferreira [2], R. Gervais [1] and N. Ravel [1]

[1] *Université de Lyon, F-69366, Lyon, France ; Université Lyon 1, Lyon ; CNRS UMR5020 Neurosciences Sensorielles Comportement Cognition*

[2] *UMR INRA 85 - CNRS 6175-Université Tours, F-37380, Nouzilly, France*

Abbreviated title: **Beta-oscillatory activity and odor aversion networks**

Corresponding Author: **J. Chapuis**

Address: Neurosciences Sensorielles, Comportement, Cognition
UMR 5020 CNRS-Université Claude Bernard Lyon 1
50, avenue Tony Garnier 69366 Lyon cedex 07 – France

Phone: +33 (0)4 37 28 74 20 ***Fax:*** +33 (0)4 37 28 76 01 ***Email***: jchapuis@olfac.univ-lyon1.fr

Acknowledgments: This work was supported by the CNRS, by the Ministère de l'Education Nationale, de la Recherche et de la Technologie, and by the AROMALIM Grant Agence National de la Recherche 05-PNRA-002.

Keywords: food memory, orthonasal, retronasal, oscillation, insular cortex, amygdala, olfaction

Abstract

Recent findings have revealed the importance of orthonasal and retronasal olfaction in food memory, especially in conditioned odor aversion (COA); however, little is known about the dynamics of the cerebral circuit involved in the recognition of an odor as a toxic food signal and whether the activated network depends on the way (orthonasal versus retronasal) the odor was first experienced. In this study, we mapped the modulations of odor-induced oscillatory activities through COA learning using multisite recordings of local field potentials in behaving rats. During conditioning, orthonasal odor alone or associated with ingested odor was paired with immediate illness. For all animals, COA retrieval was assessed by orthonasal smelling only. Both types of conditioning induced similarly strong COA. Results pointed out *(i)* a predictive correlation between the emergence of powerful beta (15-40 Hz) activity and the behavioral expression of COA and *(ii)* a differential network distribution of this beta activity according to the way the animals were exposed to the odor during conditioning. Indeed, for both types of conditioning the aversive behavior was predicted by the emergence of a strong beta oscillatory activity in response to odor in the olfactory bulb, piriform cortex, orbitofrontal cortex, and basolateral amygdala. This network was selectively extended to the infralimbic and insular cortices when the odor was ingested during acquisition. These differential networks could participate in different food odor memory; these results are discussed in line with recent behavioral results that indicate that COA can be formed over long odor-illness delays only if the odor is ingested.

Introduction

During food consumption, the experience of the aliment is achieved through different sensory channels. Olfaction is as such a dual modality in that it allows the organism to explore the food at once via external (distal) and internal (proximal) pathways (Rozin, 1982). Odorant molecules of the aliment could indeed reach the olfactory epithelium either via the nose (orthonasal olfaction) or via the nasopharynx when food is introduced into the mouth (retronasal olfaction) during eating and drinking (Pierce & Halpern, 1996). Psychophysical data indicate that the same odor delivered through the two routes could give rise to different perceptual qualities (Rozin, 1982; Sun & Halpern, 2005; Hummel *et al.*, 2006). This assumption was recently supported by dissimilarities in f-MRI brain activations (Small *et al.*, 2005) and in event-related potentials (Hummel & Heilmann, 2008) according to orthonasal or retronasal odorant stimulations.

The sensorial image of the aliment can be associated with the consequences of food ingestion as a gastric malaise. It was previously claimed that food aversion learning depends exclusively on the taste modality (Garcia & Koelling, 1966); however, recent findings challenge this assumption and support the idea that the predisposition to retronasal olfaction is well associated with delayed post-ingestive consequences (Slotnick *et al.*, 1997; Chapuis *et al.*, 2007). Moreover, once this odor-malaise association has been established, distal odor cues are sufficient to recognize toxic food (Chapuis *et al.*, 2007). The focus of this study is to understand how conditioned odor aversion (COA) changes the neural processing of food odor (which shifts from a neutral to a negative hedonic valence) and to what extent these modifications depends on how the odor was first experienced (either as an orthonasal or as an ortho- and retronasal cue).

Cerebral processes supporting perception and memory can be investigated through the study of transient oscillations that reflect synchronous activities in large-scale neural assemblies (Engel & Singer, 2001; Tallon-Baudry *et al.*, 1999; Varela *et al.*, 2001). In rodents, both gamma (60-90 Hz) and odor-induced beta (15-40 Hz) oscillatory activities of local field potentials (LFP) have been reported to be associated with perception and the cognitive processing of olfactory stimulus (Ravel *et al.*, 2007, Beshel *et al.*, 2007). In a go-no-go task, beta oscillatory activity was shown to be specifically correlated with olfactory recognition in a cerebral network including both olfactory and limbic areas (Martin *et al.*, 2004a, b, 2006, 2007), and was proposed to functionally and selectively bind areas engaged in the same stimulus representation. These studies pointed to oscillatory activities as a good way of mapping learning-induced plasticity in a network. Thus, we used them to address the question of how the mode of odor presentation could influence the extent of the network recruited by learning.

Using eight-site recordings of LFP in behaving rats, we compared the distribution of odor-induced oscillatory activity in the same neural network before and after COA in animals conditioned with only orthonasal or with both orthonasal and ingested odor. The attribution of an aversive hedonic valence to the conditioned odor was accompanied with a strong amplification of beta oscillatory activity in a network including the olfactory areas (olfactory bulb and pirifom cortex), the orbitofrontal cortex, and the basolateral amygdala for both types of conditioning. Moreover, the insular and infralimbic cortices selectively joined the network when the odor was ingested during its first presentation.

Materials and Methods

Subjects

Experiments were performed in accordance with the European Directive 86/609/EEC regarding the care and use of laboratory animals. The subjects were 20 male Wistar rats (around 280 g) obtained from Charles River Laboratories (L'Arbresle, France). They were maintained in a temperature (22±0.5°C) and humidity (50±5%) controlled room, and on a 12h-12h light-dark cycle (lights on at 7:00 a.m.). All experimental sessions were carried out during the light portion of the cycle between 9:00 a.m. and 2:00 p.m. Animals were housed in groups (4-6 rats) until the surgical procedure, and isolated afterwards. Food and water were available *ad libitum*, except during the behavioral procedure when access to water was given twice a day (20 min in the experimental chamber and 30 min in the home cage at 6:00 p.m.). Subjects were handled (5min/day), and weighed daily to assess their adaptation to hydric restriction.

Behavioral procedure

The experimental setup and the training procedure have been described in detail elsewhere (Chapuis *et al.*, 2007).

Apparatus

The experimental cage was equipped on one wall with a self-delivery drinking system constituted by a port coupled with a mobile drinking spout (1 cm below the port) (see Fig.1.a). Deodorized air constantly flowed through the port. The detection of a rat nose poke by optical

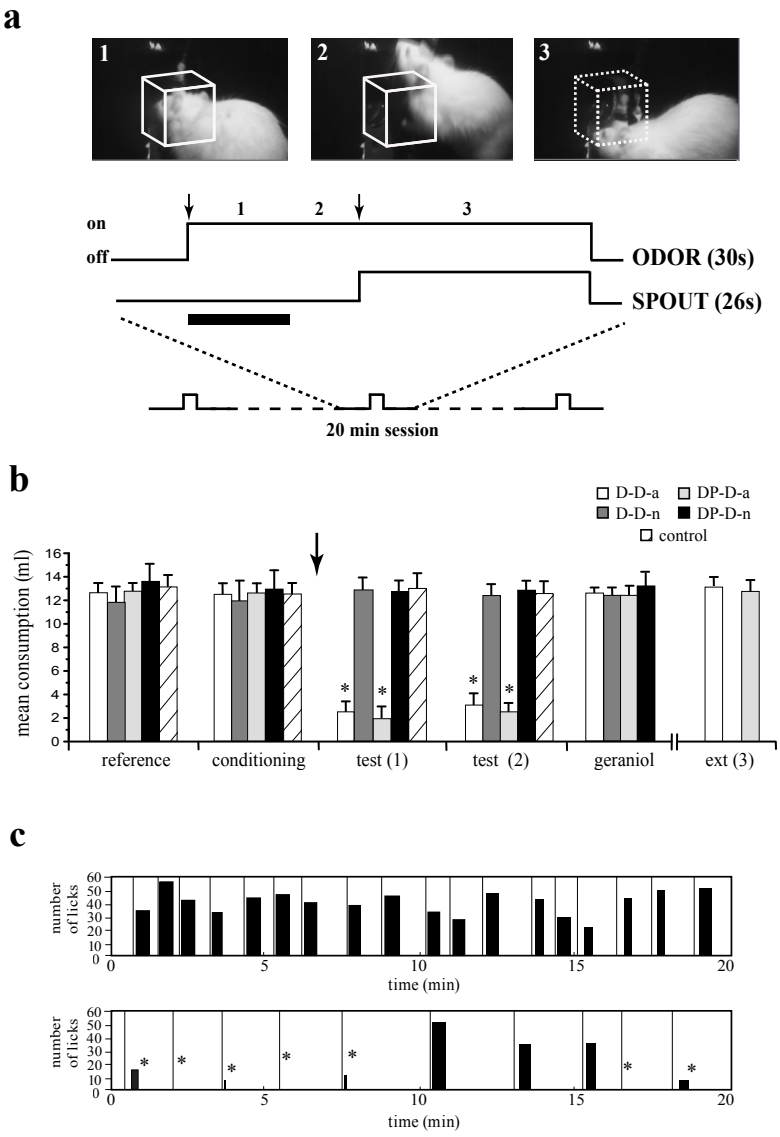


Figure 1. Behavioral data. **a.** Each trial is initiated by the detection of a nose poke in the port, which triggers olfactory stimulation (30 s in total). After a delay of 4 s after odor onset (materialized by the two arrows), the drinking spout (containing water or odorized water) is made available until odor offset. During this delay, video analysis (upper images) allowed us to determine the duration of odor sampling (gray bar), i.e. the minimal time spent in the odorized zone (in white); in this example, the animal was in contact with the odorized zone in 1 but no more in 2, and was licking the spout in 3. **b.** Mean (+SEM) liquid consumption for each experimental session and each group (see Table 1 for details on conditions of olfactory stimulation). An asterisk indicates a significant decrease of consumption between conditioning and test sessions (Paired *t*-test, $p< 0.01$, at least). The D-D-a and DP-D-a groups ("Aversive groups") have developed a strong odor aversion contrary to the DP-D-n and D-D-n groups ("Non-Aversive groups") and to the control group. **c.** Examples of licking patterns during conditioning (top) and test (down) sessions for a DP-D-a rat. Each trial (thin bars) could or not be followed by drink intake expressed in terms of number of licks (black histograms). Asterisks indicate trials with very weak or no water intake.

detectors situated on the bottom of the port triggered odor delivery: A controlled fraction of odorized air was added to the main flow for a given period. After a controlled delay, the spout was introduced into the cage. Each lick given by the rat to the spout initiated a pump, which

delivered a calibrated volume of solution (~ 200 µl). Thus, the device allowed a rat to be exposed to the odor before having access to the water solution and to remain exposed to the odor while drinking the solution from the spout. A vacuum system ensured the odor remained confined to the port-spout ensemble. The whole set-up was controlled by C++ custom software.

Behavioral task

Pre-operative shaping

During one week, each rat was accustomed to drink from the spout 20 min per day in the experimental chamber. During each daily session, the animal was trained to initiate the introduction of the spout by making a nose poke deep into the port. The spout was available for 26 s and then retracted. After a refractory period of 5 s, the animal could initiate a new trial. During this phase of shaping, we progressively increased the delay between nose pokes and spout introduction to train the animal to wait in front of the port.

Post-operative COA training

COA training began after a recovery period of two weeks. Animals were first habituated to be connected to the recording device. For each daily session, data concerning the total volume of fluid consumed, the number of trials initiated, and the licks per trial were collected. This phase was continued until the animals stabilized their water consumption (days 1-3) and performed at least 10 trials per session.

The following day (day 4) was taken as a reference session for both behavior (basal water intake measurement) and electrophysiological recordings (basal activity after a nose poke in the absence of any odor stimulation). During the conditioning session (day 5), the conditioning stimulus (CS), isoamyl acetate (=Iso, Sigma-Aldrich, France) was introduced for 30 s in the port. Approximately 4 s after odor onset, the drinking spout was made available for 26 s, i.e., until odor offset. As during the shaping phase, a new trial could be then initiated after 5 s. Two modes of CS presentation were used in this study. For a first group of animals (D-D, n=8), Iso was given via the port (10% of saturated vapor introduced into the air flow), while the drinking solution consisted of pure water (=distal presentation). For a second group of animals (DP-D, n=8), Iso was given via the port (10% of saturated vapor), while the spout contained an odorized but tasteless (Slotnick *et al.*, 1997) Iso solution (0.01% in water) (=distal-proximal presentation). Five minutes after the end of the drinking session, each rat was given an i.p. injection of lithium chloride (LiCl, 0.4M, 125mg/kg, 0.75% body weight, Sigma-Aldrich, France) inducing a gastric malaise (US), and returned to its home cage. A control group

(Control, n=4) followed the same protocol as the DP-D group, except that the animals received an equivalent volume of NaCl (0.9%) instead of LiCl.

After a recovery period to reestablish the mean baseline water intake (days 6-7, 20 min of access to water similarly to the reference session), animals were re-exposed to the CS odor during two test sessions (days 8-9). During this phase, for D-D, DP-D, and control groups, Iso was only presented in a distal way. For each animal, a decrease of at least 50% of its total consumption during test sessions compared to conditioning was used as a measure of global aversion.

On the next day (day 10), COA specificity was tested by exposing both DP-D and D-D groups to a new, distally presented odor (geraniol=Ger; Sigma-Aldrich, France; 44% of saturated vapor, a concentration judged similar in intensity to 10% of Iso by several experimenters). During the following sessions (days 11-13), extinction of COA was performed by repeating test sessions with Iso on successive days. During this phase, a distal presentation was used for both groups.

The different conditions of odor stimulation during COA training are summarized in Table 1.

	reference	conditioning	test (1,2)	geraniol	ext (1,2,3)
D-D (n=8)	No odor + water	Iso in port + water	Iso in port + water	Ger in port + water	Iso in port + water
DP-D (n=8)	No odor + water	Iso in port + in solution	Iso in port + water	Ger in port + water	Iso in port + water
control (n=4)	No odor + water	Iso in port + in solution	Iso in port + water	- -	- -

Table 1. Conditions of olfactory stimulation according to the different experimental sessions and groups. D = distal presentation of odor (odor in the port); DP = distal and proximal presentation of odor (odor in the port and mixed in the drinking fluid, tasteless solution). Iso=isoamyl acetate; Ger=geraniol; ext=extinction. On the conditioning day, animals of the D-D and DP-D groups received an i.p. injection of LiCl (0.4 M) five min after the end of the session. The control animals had followed the same procedure, but received an injection of NaCl (0.9%) instead of LiCl.

Surgery

Based on data from the literature detailed in the discussion, we chose to study the activity of the following structures: The olfactory areas (olfactory bulb and piriform cortex), some frontal areas that are the targets of olfactory inputs (orbitofrontal, insular and infralimbic cortices), and the basolateral amygdala, which is critical for aversive learning. We have particularly tagged the anterior and posterior parts of the piriform cortex and the granular and agranular zones of the

insular cortex, as functional and anatomical distinctions between these divisions have been previously suggested.

Anesthesia was induced and maintained by i.p. injections of equithesin (a mixture of chloral hydrate and sodium pentobarbital, 3 ml/kg). For the D-D and DP-D groups, eight monopolar recording electrodes (80 μm; 100–500 kΩ) assembled in pairs (except for the OB and the infralimbic cortex sites) were all positioned in the left hemisphere according to the following coordinates (Paxinos and Watson, 1998): posterior part of the olfactory bulb (OB) (7 mm anterior relative to the nasal suture, 1.3 mm lateral and 4.5 mm ventral to the bregma); anterior part of the piriform cortex (aPC) and the ventrolateral part of the orbitofrontal cortex (OFC) (3.2 mm anterior, 3 mm lateral and 5.5 to 6.8 mm ventral to the bregma, with an intertip distance of 1.5 mm); infralimbic cortex (ILC) (2.7 mm anterior, 0.4 mm lateral, and 5 mm ventral relative to the bregma); medial part of the insular cortex (IC), one electrode in the granular zone (gIC) and the other in the agranular zone (aIC) (0.7 mm anterior, 5.6 mm lateral, and 5.5 to 7 mm ventral to the bregma, with an intertip distance of 1.5 mm); posterior part of the piriform cortex (pPC) and the basolateral nucleus of the amygdala (BLA) (2.8 mm posterior, 5.1 mm lateral, and 8 to 9.5 mm ventral to the bregma, with an intertip distance of 1.7 mm). In the OB, the electrode was placed at the level of the mitral cell layer using electrophysiological monitoring of the characteristic large multiunit mitral cell activity (Pager, 1974). In aPC and pPC, the electrode tip was positioned at the vicinity of the pyramidal cell layer using the reversal point of the evoked potential induced in this structure in response to electrical stimulation of the OB electrode (0.1 ms pulse, 300 μA). In order to ensure a correct positioning in the IC, the electrode tip was first carefully lowered in the underlying piriform cortex (as previously explained), and then positioned 1.3 mm above this position. Extensive preliminary experiments were carried out to determine the optimal intertip distance for the aPC-OFC, aIC-gIC and pPC-BLA pairs of electrodes. As a consequence, once the deepest electrode of the pair was positioned in the targeted structure, we maximized the chance that the more superficial one was also correctly situated. For the control group, we limited recordings to OB, aPC, and pPC sites since these regions were previously reported to exhibit a learning-induced modification of oscillatory activity (Martin *et al.*, 2004b). In all rats, the reference electrode was positioned in the skull bone above the contralateral cortical hemisphere at 5 mm posterior to the bregma. All electrodes were connected to a miniature socket fixed onto the rat's head by dental cement. Two weeks of recovery separated surgery from COA training.

Histological identification of recording sites

At the end of the experiment, rats were injected with a lethal dose of pentobarbital, and an electrocoagulation (1 mA; 6 s) was performed through each electrode. Animals were then transcardially perfused with physiological saline, followed by 10% formal saline. The brains were removed and post-fixed before being cryoprotected by immersion in a 25% sucrose solution. Coronal brain sections (40 µm thick) were performed using a freezing microtome (-20°C) and stained with Cresyl Violet. For each rat, we were able to determine the position of each recording electrode (see Fig. 2).

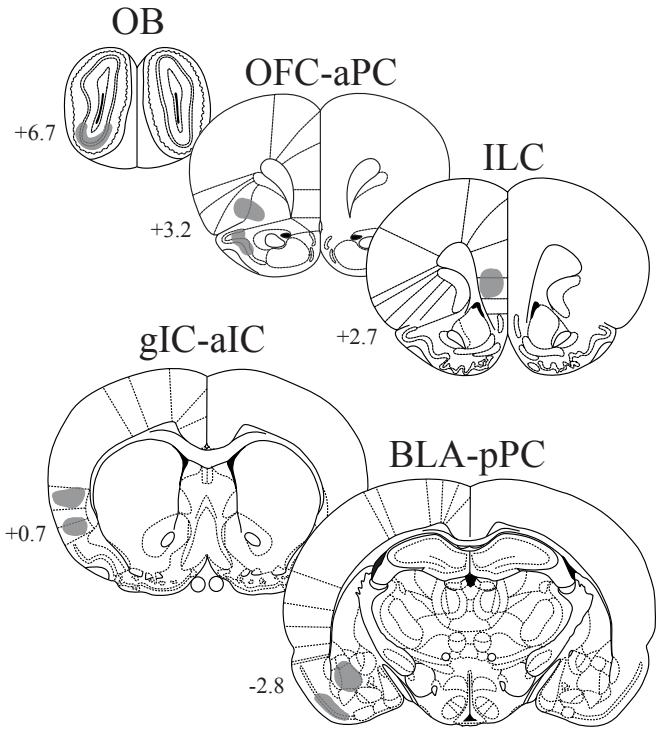


Figure 2. Schematic representation of localization of the eight recording sites (adapted from Paxinos and Watson, 1998, fourth edition). Numbers on the left of the slices indicate the antero-posterior distance relative to the bregma suture. The shaded zone summarizes the extension of recorded sites obtained from all rats. OB: Olfactory bulb, OFC: Orbitofrontal cortex (most dorsal shaded zone of the slice), aPC: Anterior piriform cortex (most ventral shaded zone), ILC: Infralimbic cortex, gIC: Granular insular cortex, aIC: Agranular insular cortex, BLA: Basolateral amygdala (most dorsal shaded zone), and pPC: Posterior piriform cortex (more ventral shaded zone).

Electrophysiological recordings

Local fields potentials (LFP) were continuously recorded during each 20 min session of COA training. The entire experimental arena was placed in a Faraday cage. Unipolar recording of neural activity was acquired in parallel for each electrode with respect to a reference electrode. The cable was connected to a swiveling electrical connector that allowed free movements of the

animal. Unitary gain field effect transistors positioned in the headstage allowed the reduction of movement and cable artifacts. The LFP signals, together with event markers (odor onset and offset, nose pokes, and licks), were recorded full-band (0-5 kHz), digitized (sampling frequency 3 kHz), and stored on a personal computer using Tucker Davis Technologies equipment (TDT, System 3, Alachua, FL).

Video acquisition and analysis

Each 20 min session of COA training was video-recorded by two cameras (acquisition rate: 25 images/s, RS170): One camera provided an overview of the entire cage, while the other focused on the port-spout ensemble. Videos were acquired and analyzed with the Video Off-Line and Comportment Analysis Software (VOLCAN, Lyon, France, http://olfac.univ-lyon1.fr/unite/equipe-7/activite/volcan.html). Our aim was to precisely correlate animal odor sampling behavior to the electrophysiological recordings. Thus, and according to previous pilot studies, we defined a zone in the vicinity of the port-spout ensemble where the probability for the animal to be exposed to the odor was maximal despite being out of the triggering zone (deep in the port). Indeed, once the animal had triggered the odor by putting its nose deep in the odor port, it usually moved between one or two centimeters away and sampled the odor. For this reason, we performed a post-acquisition analysis comprising of two steps: (i) We coded for each trial of the COA training sessions the rat's nose position relative to the odorized zone (see Fig.1.a.) or to the same (odorless) spatial region for the reference session, and (ii) we used this code to precisely classify epochs of electrophysiological signals to analyze.

Data computation

Behavioral markers (odor onset and offset, nose pokes, licks, nose position relative to the odorized zone), electrophysiological data, and video-LFP signals synchronization parameters were exported and stored in a MySQL engine database. All subsequent analyses were performed with software written in the Python language and its scientific data processing module (SciPy).

LFP analysis

Raw data were first visually inspected and only the electrodes presenting a good signal-to-noise ratio were kept for analysis; any trial showing artifacts was discarded. The time window of analysis was centered on the first nose poke-in detection of each trial (triggering odor onset). Two temporal periods were determined: A 1 s baseline period extending from 1.5 to 0.5 s before the trial initiation and an odor period (from 0 to 4 s max) between the trial initiation and the

drinking spout access, which coincided for all behavioral groups with the moment when the odor was distally presented. For each trial, the duration of the odor period was determined by the duration of odor sampling (i.e. the time spent by the animal in the odorized zone, see Fig.1.a.); however, trials in which odor sampling lasted for <100 ms were excluded. The same procedure was used for the reference session (the period of analysis corresponding then to the time spent in the same but non-odorized zone) to determine the basal activity in the absence of olfactory stimulation.

Signal analyses were performed with the OpenElectrophy Software (Lyon, France, http://neuralensemble.org/trac/OpenElectrophy). The first step of signal analysis consisted of extracting the spectral components of the signal by applying a continuous wavelet transform (Mallat, 1989) between 0 and 100 Hz. The wavelet used here was the Morlet wavelet (Kronland-Martinet *et al.*, 1987), defined in the time domain by $\Psi(t) = (1/2\pi)\, e^{-i2\pi f0te-t2/2}$ and in the frequency domain by $\Psi(f) = (1/2\pi)\, e^{-2\pi 2(f-f0)2}$. This transformation leads, for each trial, to a time frequency matrix where each point represents the level of energy for a given instant and a given frequency: Hot color spots represent transitory oscillations. The method used to quantify changes in the beta (15-40 Hz) frequency band is based on the wavelet ridge extraction previously described by Roux *et al.* (2007) and applied to biological signals by Cenier *et al.* (2008). For each trial, a power threshold (mean + 3STD) was calculated between 15 and 40 Hz on the baseline period. Wavelet ridge extraction allows for the detection of bursts of oscillation above this threshold and gives their energy, their precise temporal position, and their instantaneous frequency and phase (features exported in the MySQL database). Only bursts presenting at least three oscillatory cycles were considered as relevant and kept. Evoked potentials were discarded of the analysis. For each trial, we obtained a value of energy corresponding to the averaged power of all oscillations detected during the odor period. In order to allow inter-structure comparisons, this value was normalized for each trial by the mean power of the baseline period in the beta frequency band.

Gamma band activity (60–90 Hz) was analyzed by extracting the mean power between 60 and 90 Hz for the reference and the odor periods. As previously described (Ravel *et al.*, 2002, Martin *et al.*, 2004a, b) we observed a reproducible depression of power during the odor period relative to the baseline period in the OB, aPC, pPC, and also in the OFC and ILC (data not shown); however, this decrease was constant over the different sessions (conditioning, test, and extinction), the learning criterion (aversive or not), and the odor (Iso or Ger), but the data are not presented here.

Due to the difficulty of interpreting the origin of theta rhythm (respiratory activity or endogenous theta from the limbic system share the same frequency domain) in behaving animals, the 0-15 Hz band has not been analyzed.

Statistical analyses

In regard to behavioral results, we assessed whether the total consumption, the total number of trials, or the total number of licks per trial were different according to experimental sessions and groups of animals. For a particular experimental session, the different groups of animals were compared with a Kruskal–Wallis test. Within-group comparisons were analyzed with paired *t*-tests.

Concerning electrophysiological data, for each rat, we obtained a variable amount of trials corresponding to each of the recording sessions (reference, conditioning, test, geraniol, and extinction). Effects of the following factors were assessed on mean power values in the beta (15-40 Hz) frequency band: Session, recording sites (OB, aPC, pPC, ILC, OFC, aIC, gIC, and BLA), learning (aversion or no aversion), and odor mode of presentation during conditioning (distal or distal-proximal). As the distribution of power value is not normal, statistical comparisons were performed with nonparametric tests. One-way analyses of variance were performed using the Kruskal–Wallis test to support the influence of a given factor. Then, all pair-wise differences were tested using the Mann-Whitney *U* test for unmatched samples.

Results

Behavioral task

As previously described (Chapuis *et al.*, 2007), a rat was considered to exhibit an aversive behavior when a reduction in consumption of at least 50% was observed on the test session compared to the conditioning session. According to this criterion, six of the eight animals of each of the D-D and DP-D groups developed an odor aversion. As a consequence, animals of the DP-D and D-D groups were allocated to four sub-groups: DP-D Aversive (DP-D-a, n=6), DP-D Non-Aversive (DP-D-n, n=2), D-D Aversive (D-D-a, n=6), and D-D Non-Aversive (D-D-n, n=2). Moreover, a control group (n=4) followed the same protocol as the DP-D group, but was not conditioned (they received an injection of physiological saline instead of LiCl during the conditioning session), and consequently did not exhibit any aversion during testing. The

consumption behavior of the different sub-groups was then separately analysed for all of the experimental phases. Results concerning the mean liquid consumptions are illustrated in Fig.1.b., while those concerning the mean number of trials and licks/trial are represented in Table 2. Since the three variables showed similar trends, only the consumption data are described in detail.

		reference	conditioning	test 1	test 2	geraniol	ext 3
D-D-a	nb trials	20±1	19±2	10±3*	10±1*	21±1	19±2
	nb licks/trial	39±3	41±7	13±7*	15±6*	43±7	39±6
D-D-n	nb trials	23±2	22±3	21±1	20±2	20±2	-
	nb licks/trial	35±6	34±6	30±3	32±6	30±4	-
DP-D-a	nb trials	21±1	19±2	11±2*	12±2*	21±1	19±1
	nb licks/trial	35±2	31±2	15±7*	15±4*	36±7	33±2
DP-D-n	nb trials	22±2	20±1	21±1	22±2	22±1	-
	nb licks/trial	38±3	35±7	36±7	34±3	33±3	-
control	nb trials	20±2	20±2	19±1	22±3	-	-
	nb licks/trial	36±4	36±7	33±2	34±1	-	-

Table 2. Mean (±SEM) number of trials and licks per trial for each experimental session and group. An asterisk indicates a significant difference from the conditioning session, * $p < 0.01$.

Water Baseline

A Kruskal-Wallis test applied to the reference session did not reveal differences between groups in baseline water intake ($p = 0.7750$).

COA acquisition

During the conditioning session (first presentation of the CS), all the animals drank the same amount of liquid: Water for the D-D-a and D-D-n groups or odorized tasteless water for the DP-D-a, DP-D-n, and control groups (Kruskal-Wallis, $p=0.8711$). As illustrated with the licking pattern presented in Fig 1.c, the animals performed trials that were regularly distributed throughout the session, and were followed by comparable drink intakes. Paired *t*-tests reveal no difference between the reference and the conditioning sessions ($p>0.05$ for all groups), which could indicate an absence of neophobia against Iso (no matter how it was presented). During the next two days between conditioning and the tests, all groups showed a normal consumption of water (data not shown).

COA retrieval

Aversive groups

All of the animals of both the D-D-a and DP-D-a groups presented a strong decrease (more than 50%) of their consumption of water between the conditioning and test sessions, which demonstrates a clear aversion to Iso. No difference was found between the two test days ($p > 0.05$ for both groups), which indicates an absence of extinction between these two sessions. The intensity of odor aversion was similar for the two groups (for the two tests together, decreases in water intake of 73±7% and 78±7% were measured for the D-D-a and DP-D-a groups, respectively). This result confirms that, in the case of a short CS-US delay, no behavioral difference is detectable during the retrieval phase between animals that have or have not ingested the odorant tasteless solution during acquisition (Chapuis *et al.*, 2007).

An animal is classically judged as aversive on the basis of its decrease of consumption measured during the entire session (*e.g.* Ferreira *et al.*, 2005; Chapuis *et al.*, 2007); however, our experimental design allowed us to distinguish, within aversive groups, two behavioral responses across the different trials of the same test session. As illustrated by the examples of licking pattern (see Fig. 1.c), some trials were characterized by a severe decrease or an absence of drink intake, while in others, the animal exhibited a drink intake similar to the trials of the conditioning session. When compared to average values observed during conditioning, water intake on a given trial during the two test sessions was considered as reduced if one of the following criteria was fulfilled: The number of licks was lower than the average value-SD, the latency of the first lick once the spout was made accessible was > 5 s, and the interval between two licks trains was > 10s. If none of these criteria was met, the trial was classified as "normal intake." "Reduced intake" trials represented averages of 73± 5 % and 67± 6% of the total number of trials (tests 1 and 2, respectively) for the D-D-a group, and 68± 7% and 64± 5% of the total number of trials (tests 1 and 2, respectively) for the DP-D-a group. Animals of D-D-n and DP-D-n groups presented less than 10% of trials classified as "decreased intake."

Non-Aversive and control groups

During the two successive test sessions, neither the control group nor the D-D-n and DP-D-n groups exhibited a decrease of consumption compared to conditioning.

COA specificity

A Kruskal-Wallis test applied to the geraniol session did not reveal differences between groups in baseline water intake (p=0.6000). For the D-D-a and the DP-D-a groups, there was no significant difference of consumption between the geraniol and the reference sessions (Paired *t*-test, $p_{D\text{-}D\text{-}a}$= 0.5341; $p_{DP\text{-}D\text{-}a}$= 0.1210) or the conditioning session ($p_{D\text{-}D\text{-}a}$=0.5965; $p_{DP\text{-}D\text{-}a}$= 0.2387), which indicates that animals did not generalize their odor aversion against Iso to Ger. The pattern of licking was also stable across trials for all the groups during the geraniol session.

COA extinction

After 3 additional days of extinction tests (tests 3, 4, and 5), animals of both the D-D-a and DP-D-a groups had recovered their level of consumption measured during the conditioning session. The same time course of extinction was observed for both groups (data not shown).

Electrophysiological outcomes

The positioning zones of the different electrodes are summarized on Fig. 2. For each experimental group (D-D-a and DP-D-a) and each daily session, data for a given recording site concerned at least n=4 rats and m=81 trials. For each D-D-n and DP-D-n group, data concerned n=2 rats and at least m=40 trials per daily session (data of the BLA for the D-D-n group and the OFC and pPC for both groups are not shown because they only concerned one rat). For the control group, data concerned n=4 rats and at least m=72 trials per daily session for the three recorded sites (OB, aPC, and pPC).

LFP analysis consisted in the detection of oscillatory bursts activities during the first seconds of sampling of the distal odor cue (before the spout was made available). Regarding the duration of odor sampling, there was no significant difference between the different experimental sessions or between the different groups. The median value of the sampling duration was 2.9± 0.7 s.

Modulation of odor-induced beta oscillatory activity through COA learning

Examples of the LFP signals recorded during odor sampling are illustrated in Fig.3. As explained in the Methods, we focused on the quantitative analysis of data extracted in the beta frequency band from the wavelet analysis. They are presented in Figs. 4, 5, and 6. In order to compare the beta-band activity elicited by odor sampling across the different structures, we express the amplitude of the signal as an average ratio of the power of the odor sampling period

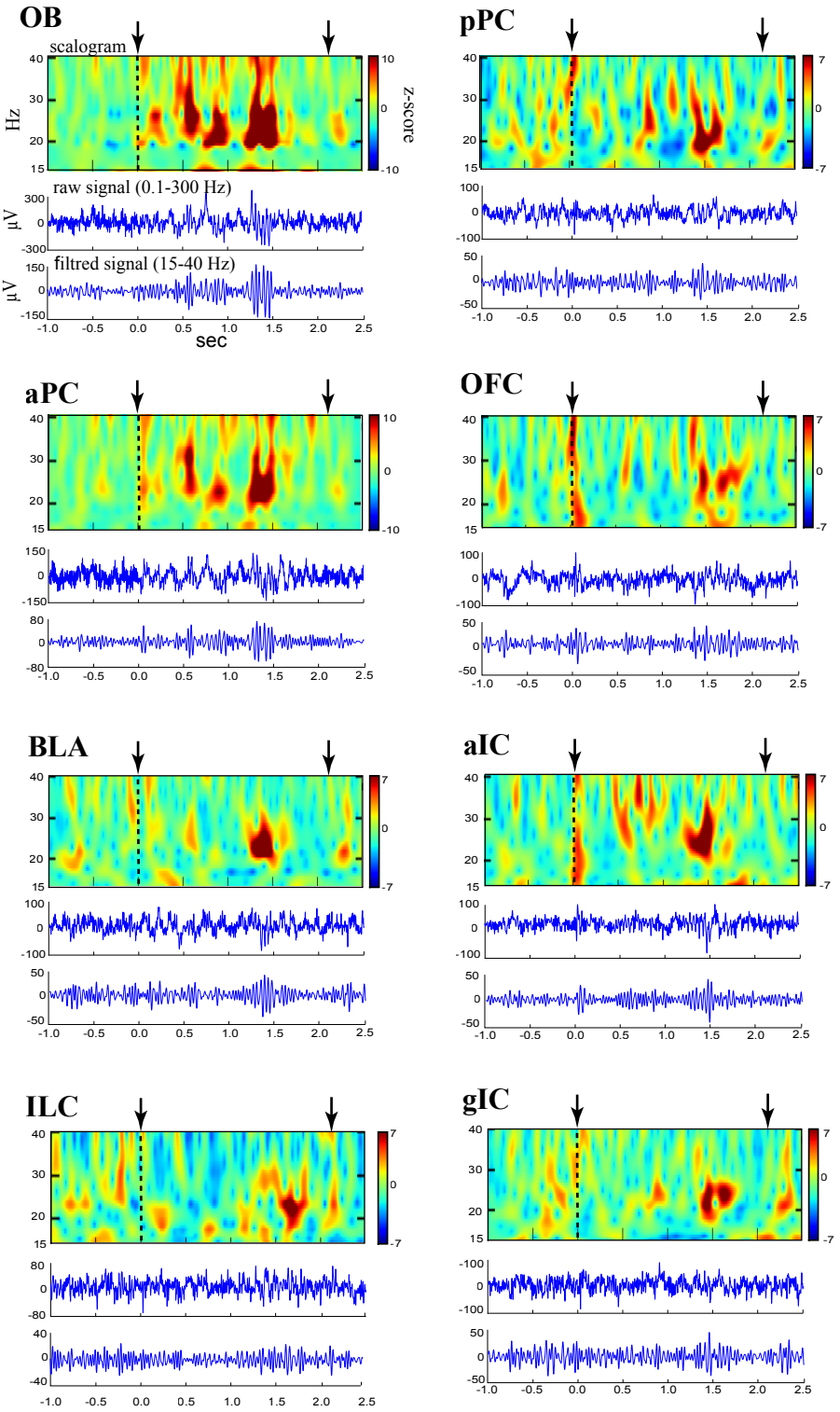


Figure 3. Representative local field potentials preceding and during odor sampling for the eight recording sites in parallel. The example shown represents a trial of a DP-D-a rat during test (1) for which odor sampling was followed by an absence of drink intake. For each site, we present the raw signal (middle trace), the signal filtered in the beta frequency band (bottom trace), and the corresponding time-frequency decomposition between 15 to 40 Hz (scalogram, top of each figure). In order to visually compare beta power values across structures, normalization by the mean power of the baseline period was applied to the scalograms. Odor onset (time 0) is indicate by the dashed line. In each recording site, the odor sampling period (time between the vertical arrows) is associated with a transient increased amplitude in beta band activity.

over the baseline period. Statistical analyses performed on the power of the odor-induced beta oscillatory activity reveal a significant effect of the session (reference, conditioning, test, geraniol, and extinction; Kruskal–Wallis test $p < 0.00001$), the behavioral response (aversion or no aversion, Mann-Whitney U test $p<0.0033$), the odor mode of presentation during conditioning (distal or distal-proximal, Mann-Whitney U test $p<0.012$), and the recording site (Kruskal-Wallis test $p<0.00001$). Details of these effects are explained hereafter.

Oscillatory response to Iso during the first presentation

During its first presentation, the sampling of Iso induced an increase of power in the beta frequency band in all of the recording sites (compared to the basal activity of the reference session, Mann-Whitney U test, $p<0.0001$ for each site), except for the granular zone of the IC (Mann-Whitney U test, $p=0.594$). This was true both for the Aversive (Fig 4.), Non-Aversive, and control groups (Fig. 6). For all of the considered sites, there was no difference of power between the D-D groups and the DP-D groups (Mann-Whitney U test, $p >0.05$ for all sites).

Oscillatory response to Iso during subsequent presentations

Aversive groups

In the absence of behavioral extinction of odor aversion between tests 1 and 2 (see Fig.1.b and the behavioral task in the results), all trials from these two sessions were pooled. The odor-induced response observed in the conditioning session was greatly amplified in animals that expressed a strong odor aversion during the test (Fig. 4); however, this amplification was not the same for each structure and also differed according to the CS experience during conditioning. Indeed, intra-group comparisons showed a significant increase in the power ratio between the conditioning and test sessions in the OB, aPC, pPC, OFC, and BLA (Mann-Whitney U test, $p<0.01$), regardless of the mode of CS presentation; however, in the ILC and both zones of the IC, significant changes in power were selective of the DP-D-a group ($pILC=0.011$; $pGIC=0.009$, $pAIC=0.008$). No such changes were observed in the D-D-a group (Mann-Whitney U test, $p>0.05$). Inter-group comparisons between D-D-a and DP-D-a groups revealed no difference in power ratio in the OB, aPC, pPC, and OFC (Mann-Whitney U test, $p>0.05$) and a significant difference in the ILC, aIC, and gIC ($p<0.03$).

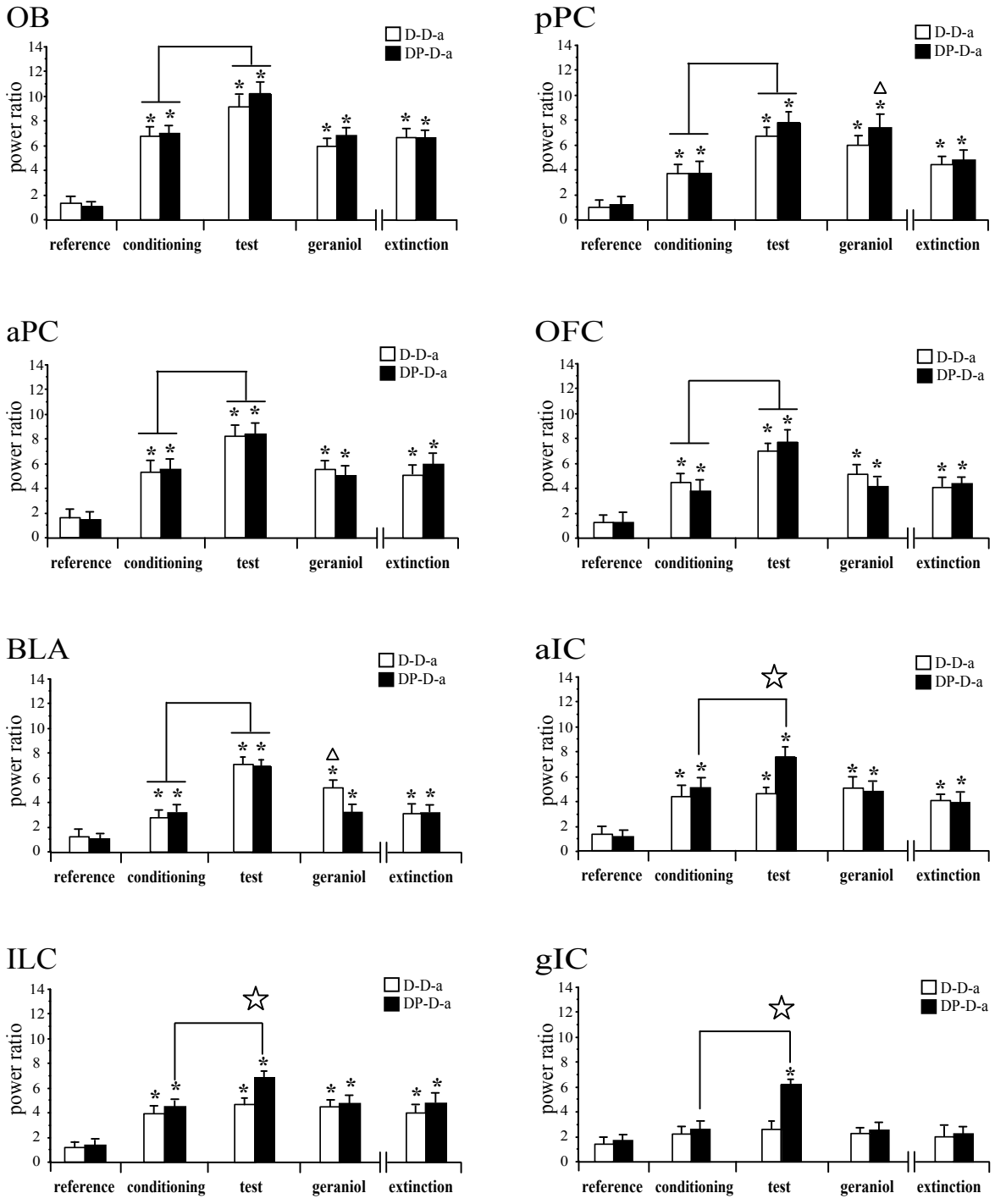


Figure 4. Modulation of beta-oscillatory activity through odor aversion learning in the eight recording sites. Results concerned animals of the D-D-a (in white) and DP-D-a (in black) groups, which developed a strong odor aversion after CS-US pairing (see Fig. 1.b). On each graph, the y-axis represents the average (+SEM) values of the ratio of amplitude of the beta response during odor sampling on the power relative to the preceding baseline period value. The x-axis represents the experimental session. Since no extinction of odor aversion was measured between tests 1 and 2 (see Fig.1.b), trials of the two sessions were pooled. Data of the reference session represent beta-band basal activity in the absence of olfactory stimulation. For each group, an asterisk indicates an increase in power ratio compared to the reference session (Mann-Whitney U test, $p < 0.03$ at least). Significant differences between conditioning and test sessions for each group are elucidated by vertical bars (Mann-Whitney U test, $p < 0.01$ at least). A star indicates a significant difference between the two groups for a given condition (Mann-Whitney U test, $p < 0.01$ at least). A triangle indicates for each group a significant increase in power between the first presentation of Iso (during Conditioning) and Ger odor (Mann-Whitney U test, $p < 0.05$). The extinction histograms correspond to the data collected when all the animals of both groups recovered the consumption measured during the conditioning period, i.e. preceding the CS-US pairing (see Fig.1.b.).

Changes in beta power are predictive of the strength of aversive behavior

In animals classified as aversive, we observed a normal water intake in few trials (see Fig.1.c and the behavioral task in the results). In order to know whether the amplitude of the odor-induced beta activity matched with the decision of normal or reduced water intake when the spout became available, we analyzed trials classified as "normal intake" separately from those classified as "decreased intake" (see Fig.5). We observed that the strongest amplifications were associated with "decreased intake" trials (Mann-Whitney U test, $p < 0.00001$); however, this effect was modulated by the recording site and the mode of CS conditioning. There was a significant difference between the two categories of trial in the OB, aPC, BLA, and OFC for both the D-D-a and DP-D-a groups and in the aIC, gIC, and ILC for only the DP-D-a group. No enhancement effect was observed in the pPC for both groups.

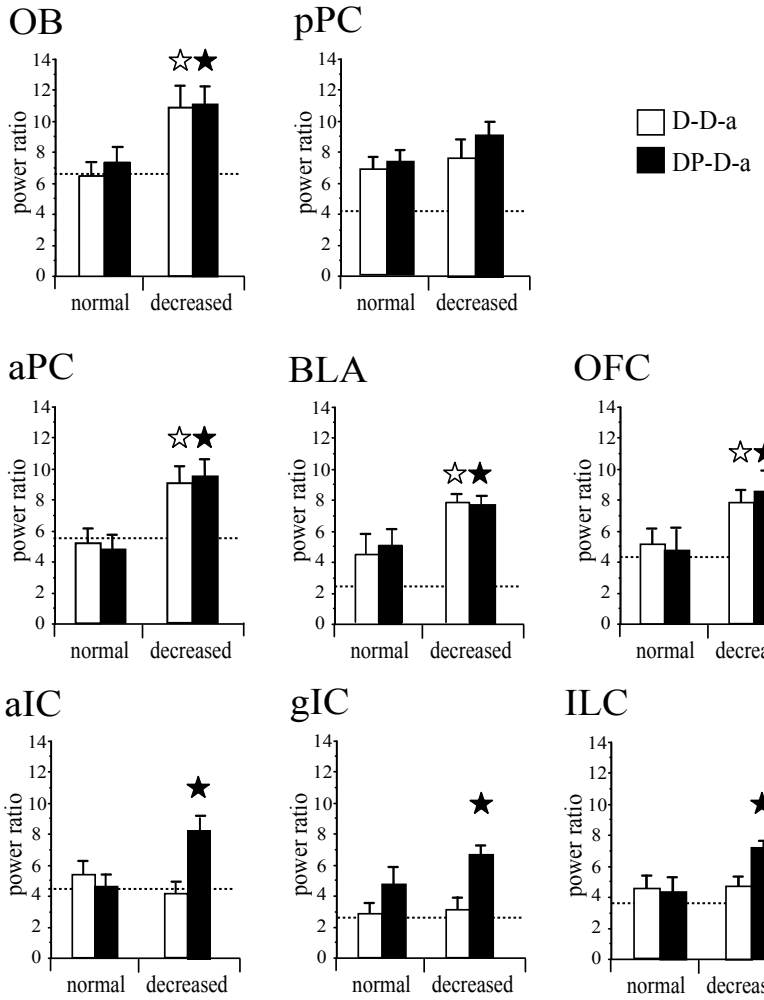


Figure 5. Changes in beta power are predictive of the strength of aversive behavior. Mean (+SEM) power ratio in the beta frequency band during the test sessions of the D-D and DP-D aversive groups. Here, trials were separated according to the type of drink intake (normal or decreased, see Fig. 1.c). A star indicates a significant difference between the two categories of trials for the D-D-a (in white) and DP-D-a (in black) groups (Mann-Whitney U test, $p < 0.05$ at least). The dashed line reports the mean level of energy during the conditioning session.

Non-Aversive and control groups

During the second and third presentations of Iso, there was an increase of power in the beta frequency band compared to the reference session (Mann-Whitney U test, $p<0.0001$ for each site, except the granular zone of the IC, $p=0.594$), but no change of the power ratio compared to the first Iso presentation in Non-Aversive rats (which received a CS-US pairing, but expressed no odor aversion in test sessions) (see Fig.6.a) and in rats belonging to the control group (which received an injection of physiological saline instead of LiCl in the conditioning session) (see Fig. 6.b.).

Oscillatory response to Ger

During the geraniol session, an odor-induced activity was observed in all of the sites (significant difference with the reference sessions, $p< 0.01$), except for the gIC ($P>0.05$). This was true both for the Aversive (Fig. 4) and the Non-Aversive groups (Fig. 6). For the Aversive groups, geraniol induced power ratios similar to those of Iso during its first presentation (i.e. during conditioning) in all of the recorded sites, except in pPC for the DP-D-a group and in the BLA for the D-D-a group, where an enhancement of power was observed for Ger (compared to the first presentation of Iso $P<0.02$; Fig. 4). For the non-aversive group, no difference was noticed between the Iso conditioning and the geraniol sessions for the recorded sites ($p>0.05$).

Oscillatory Response to Iso after COA extinction

Analysis of data after complete behavioral extinction of odor aversion still revealed for both the D-D-a and DP-D-a groups the odor-induced effect of the olfactory stimulation (significant difference of power ratio compared to the Reference session) in all the sites, except for the gIC; however, the amplitude of the odor-induced activity after extinction returned to the levels measured during the first presentation of Iso ($p>0.05$ for all of the sites), and remained below what was measured when animals were aversive during test sessions ($p<0.05$ for the sites presenting an increase in power during tests).

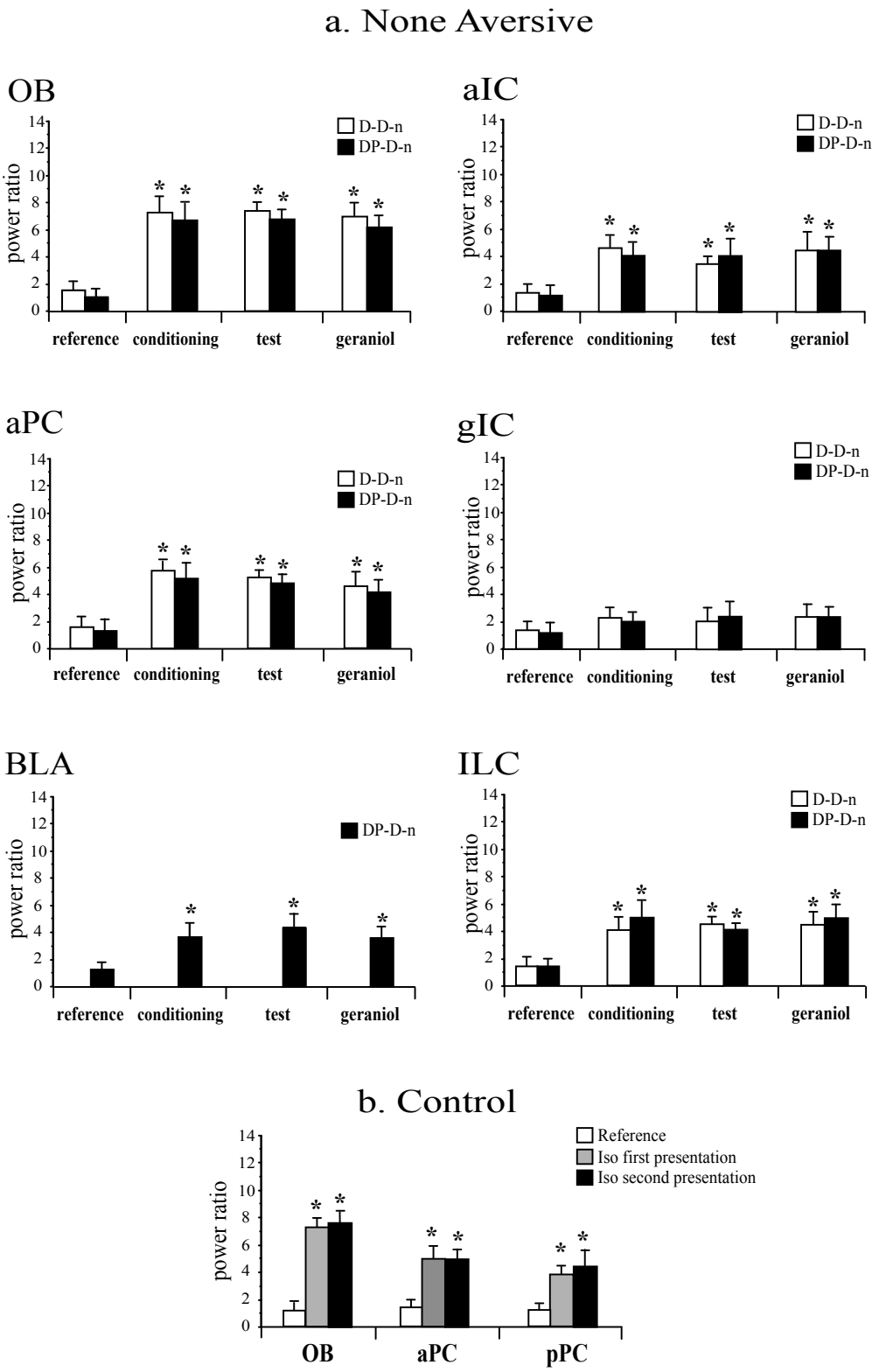


Figure 6. Beta-oscillatory activity is not amplified in absence of odor aversion learning. Mean (+SEM) power ratio in the beta frequency band. Results presented in a. (superior double panels) concern animals of the D-D-n (in white) and DP-D-n (in black) groups, which had received a CS-US pairing but had developed no odor aversion (see Fig. 1.b). Results presented in b. (single lower panel) concern control animals, which have received an injection of physiological saline. An asterisk indicates a significant increase of power ratio between the reference session (in white) and the first (in grey) and the second (in black) Iso presentation (Mann-Whitney U test, $p < 0.05$ at least).

Results summary

The present study examined how the perceptual properties of an odor cue evolve through aversive food learning and to what extent this effect depends on the way in which the odor was first perceived and learned. The behavioral procedure was designed to be close to natural conditions of food experience. Thus, rodents first smelled a distal odor cue, then might or not experience it as a proximal cue while consuming the solution. When the odor was presented for the first time (as it was in the case for Iso on the conditioning day), sampling it as a distal cue increased the oscillatory activity power in the beta (15-40 Hz) frequency band in the olfactory areas (olfactory bulb and piriform cortex), some frontal areas (orbitofrontal and infralimbic cortices), the basolateral amygdala, and the agranular zone of the insular cortex. During this first olfactory experience, the consumption of the odorized solution across trials did not influence the characteristics of beta oscillatory activity induced by the distal odor. After pairing with illness, the distal odor cue was recognized, and was sufficient for the animals to avoid the related toxic solution (see also Chapuis *et al.*, 2007). In rats expressing a clear odor aversion, the distal odor cue induced much more powerful beta oscillatory activities than those during the first odor experience in the olfactory areas (BO, aPC, and pPC), the OFC, and the BLA. In these structures, the power-increase was directly related to the strength of aversion, whether the odor was or was not ingested during conditioning. On the contrary, in the ILC and IC, odor-induced oscillatory responses were modified only if odor had been ingested during conditioning.

Discussion

Functional interpretation of oscillatory activity changes

Oscillatory activities in a cerebral network have been suggested to be the neurophysiological support of various behavioral states and mental functions, as perceptual consciousness, memory, expectation, or food disengagement (Tallon-Baudry and Bertrand, 1999; Engel and Singer, 2001; Varela *et al.*, 2001; Pare *et al.*, 2002; Gruber *et al.*, 2004; Fontanini and Katz, 2005; Mainy *et al.*, 2007). In the rodent olfactory system, both gamma (60-90 Hz) and beta (15-40 Hz) oscillatory activities were associated with the perception and cognitive processing of olfactory stimuli (Martin *et al.*, 2004a, b, 2006, 2007). The present work reports, for the first time, learning-related changes in beta oscillatory dynamics within a large cerebral network associated with COA learning. The strength of the beta activity observed in response to the odor (before the

spout was accessible) was predictive (on a trial-by-trial basis) of the aversive response of the animals once they had access to the liquid, suggesting it could reflect the integration of the olfactory clue as signaling a potentially dangerous food. On the contrary, this amplification of beta power was never observed in animals that did not develop an aversion, either because the CS-US association failed or because they received a saline injection instead of LiCl. For these animals, the odor signaled a safe food, suggesting a differential coding of safe and aversive olfactory information. This also indicates that the amplification of beta power was not simply the consequence of behavioral changes in sampling a familiar odor. Moreover, when the odor had lost its signal property for toxic food (following extinction), the beta response returned to values observed before conditioning. Finally, sampling a new odor never associated with a gastric distress (even after COA to a different odor has been acquired) was not correlated with an amplification of beta oscillatory activity, indicating the sensory specificity of the increased beta power. This set of data thus strongly supports the hypothesis that the increase in beta oscillatory activity observed in aversive animals reflects the specific recognition of the odor signaling a potentially dangerous food.

Based on its properties, power modulations of beta oscillatory response appear to be a good marker of dynamic learning-induced plasticity in a given neural network (Ravel *et al.*, 2007). Orthonasal odor experience during odor-malaise association was associated during COA retrieval with the activation of an OB-PC-BLA-OFC network. Interestingly, when this distal odor experience was accompanied by the ingestion of the odor during COA acquisition, this network of activated structures was extended to ILC and IC during retrieval. Although the neuronal substrate sustaining COA is probably not restrained to the areas recorded here, the interpretation of theses changes within each structure will be discussed in light of the literature on aversive learning.

An effective CS-US association during COA is supported by a basic network, including olfactory areas, the basolateral amygdala, and the orbitofrontal cortex

An increasing amount of findings show that the first stages of olfactory processing, the olfactory bulb and the piriform cortex, take part into the circuit of olfactory memory (Haberly and Bower, 1989; Wilson, 1998; Mouly *et al.*, 2001; Calu *et al.*, 2007; Sevelinges *et al.*, 2007; 2008). Although both OB and PC are sensitive to food odors (Chabaud *et al.*, 2000; Yoshida and Mori, 2007), their involvement in food learning circuits have received little attention. According to the alimentary status of animals, mitral cells of OB present increased activity in response to an odor

associated to toxicosis (Pager and Royet, 1976). Fos immunoreactivity in PC increased in response to a distal odor cue presented during the retrieval of taste potentiated odor aversion (TPOA) (Dardou *et al.*, 2006, 2007). Our data show that COA learning clearly modified odor-induced oscillatory activity in these structures as has already been reported in other types of olfactory conditioning (Chabaud *et al.*, 2000; Martin *et al.*, 2004a).

The amygdala, and especially the basolateral nucleus of the amygdala, plays a prominent role in the processes of acquisition, consolidation, and retrieval of the COA (Bermudez-Rattoni *et al.*, 1986; Ferry and Di Scala, 1997; Miranda *et al.*, 2003; Desgranges *et al.*, 2008; Sevelinges *et al.*, 2009). This study contributes to our knowledge the first report that COA training directly and strongly changes BLA response to odors. As this structure was identified to integrate the affective salience of chemosensory stimuli (Nishijo *et al.*, 1998; Winston *et al.*, 2005), we can hypothesize that it participates in the representation of a general aversive connotation of an odor cue.

Although a lesion of the orbitofrontal cortex does not seem to disturb the acquisition of TPOA (Lasiter *et al.*, 1985a), a recent study (Dardou *et al.*, 2007) has shown that both olfactory and taste cues activate this structure during TPOA retrieval. The OFC is known to integrate the inputs of various food-related sensory stimulations, and has been suggested to play an important role in flavor perception in humans, primates, and rodents (Rolls and Baylis, 1994; Schul *et al.*, 1996; Small *et al.*, 2007). Several studies have shown the existence of both anatomical and functional connectivity between the PC, the BLA, and the OFC (Shi and Cassell, 1998; Schoenbaum *et al.*, 1999; Majak *et al.*, 2004; Illig, 2005; Cohen *et al.*, 2008). This network could thus be a good candidate for the integration of both sensory and affective signals about food odor cues.

A network extended to insular and infralimbic cortices after the distal-proximal experience of the odor during COA

The prefrontal cortex, and especially the ILC, receives direct olfactory projections from the piriform cortex (Datiche and Cattarelli, 1996). A lesion or pharmacological blockade of the prefrontal cortex was reported to disturb olfactory associative learning (Tronel *et al.*, 2003., 2004; Carballo-Marquez *et al.*, 2007; Boix-Trelis *et al.*, 2007) and the acquisition and extinction of gustatory aversion (Akirav *et al.*, 2006; Hernádi *et al.*, 2000; Mickley *et al.*, 2005). It is also activated by both taste and odor during TPOA retrieval (Dardou *et al.*, 2007). Surprisingly, its

role in COA appears more complex since amplification of beta oscillatory activity after learning in ILC is observed only when the odor has been ingested during the conditioning phase.

The primary gustatory cortex is identified as the area overlapping the granular and the disgranular zones of the Insula (Ogawa *et al.*, 1990); neurons in this region also respond to somatosensory stimulations of the oral cavity and to visceral stimulations (Yamamoto *et al.*, 1981; Hanamori *et al.*, 1998). The more ventral agranular zone of this cortical area is a particular target of projections for primary olfactory areas (Shipley and Geinisman, 1984; Krushel and Van Der Kooy, 1988; Shi and Cassell, 1998; Sewards and Sewards, 2001). In this study, oscillatory patterns observed in response to a biologically neutral odor confirm the functional heterogeneity of this cortex. Indeed, during the first odor presentation, no increase of oscillatory activity was observed in the granular zone contrary to the agranular zone; however, a major finding is that IC (both aIC and gIC) presented a selective increase of beta oscillatory activity in response to the distal cue when the odor was experimented as a distal-ingested stimulus before intoxication. While IC is strongly involved in gustatory food aversions (Bermudez-Rattoni, 2004), its lesion or inactivation has been reported without effect on COA (Kiefer *et al.*, 1982; Roman *et al.*, 2006; Desgranges *et al.*, 2009), and has led to ambiguous results on TPOA (Inui *et al.*, 2006; Kiefer *et al.*, 1982; Lasiter *et al.*, 1985b). Due to important methodological differences in the framework used in these and our studies, it is difficult to conciliate the absence of effect of an IC lesion or inactivation on COA and an enhanced oscillatory activity in this region in response to the conditioned odor. Lesion studies presented either a distal odor alone or an ingested odor, but never proposed a combination of the two situations (i.e., exposure to distal odor alone and then access to an odorized solution). As discussed by Small *et al.* (2008), food behavior combines two perceptive phases: the distal exploration of the food and the consumption in itself (involving a proximal perception). Through experience and associative processes, the distal properties of the food could acquire a predictive value of sensations perceived during the ingestion. In the framework of this study, presentation of the conditioned distal odor cue during the retrieval session could thus reactivate memories of previous distal-proximal odor-cues associations, which would involve both infralimbic and insular cortices. Whether activity in these cortices is critical for COA acquisition and retrieval remains to be addressed experimentally in our experimental conditions.

Conclusion

This study described, for the first time, the conditions of emergence of beta oscillatory activity in a network of structures functionally involved in COA. Indeed, by using oscillatory activity as a functional marker of plasticity in each individual area, we revealed two differential (but not necessarily independent) sub-networks involved in COA learning according to primary odor experience.

The dynamic of emergence and modulation of beta oscillatory activity within the network strongly suggest that this activity could be a way for structures taking part in the network to communicate during olfactory processing associated with the behavioral outcome, as suggested by the anatomical connections within the network and other studies (e.g. Ferreira *et al.*, 2005; Grossman *et al.*, 2008). Indeed, by way of long-range synchronization and desynchronization processes, oscillatory activities have been suggested to support transient information exchanges between different cerebral areas (Tallon-Baudry *et al.*, 2001; Varela *et al.*, 2001; Martin *et al.*, 2007; Melloni *et al.*, 2007; Sehatpour *et al.*, 2008). Future issues would be designed to address the hypothesis of precise temporal interactions in the beta range within these networks, and to evaluate how critical they could be used for aversive olfactory learning.

References

Bermudez-Rattoni F (2004) Molecular mechanisms of Taste-recognition memory. Nat Rev Neurosci 5:209-217.

Bermudez-Rattoni F, Grijalva CV, Kiefer SW, Garcia J (1986) Flavor-illness aversions: the role of the amygdala in the acquisition of taste-potentiated odor aversions. Physiol Behav 38:503-508.

Beshel J, Kopell N, Kay LM (2007) Olfactory bulb gamma oscillations are enhanced with task demands. J Neurosci 27:8358-8365.

Boix-Trelis N, Vale-Martínez A, Guillazo-Blanch G, Martí-Nicolovius M (2007) Muscarinic cholinergic receptor blockade in the rat prelimbic cortex impairs the social transmission of food preference. Neurobiol Learn Mem.87:659-668.

Calu DJ, Roesch MR, Stalnaker TA, Schoenbaum G (2007) Associative encoding in posterior piriform cortex during odor discrimination and reversal learning. Cereb Cortex 17:1342-1349.

Carballo-Márquez A, Vale-Martínez A, Guillazo-Blanch G, Torras-Garcia M, Boix-Trelis N, Martí-Nicolovius M (2007) Differential effects of muscarinic receptor blockade in prelimbic cortex on acquisition and memory formation of an odor-reward task. Learn Mem 14:616-624

Cenier T, Amat C, Litaudon P, Garcia S, Lafaye de Micheaux P, Liquet B, Roux S, Buonviso N (2008) Odor vapor pressure and quality modulate local field potential oscillatory patterns in the olfactory bulb of the anesthetized rat. Eur J Neurosci 27:1432-1440.

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.

Chapuis J, Messaoudi B, Ferreira G, Ravel N (2007) Importance of Retronasal and Orthonasal Olfaction for Odor Aversion Memory in Rats. Behav Neurosci 121:1383-1392.

Cohen Y, Reuveni I, Barkai E, Maroun M (2008) Olfactory learning-induced long-lasting enhancement of descending and ascending synaptic transmission to the piriform cortex. J Neurosci 28:6664-6669.

Dardou D, Datiche F, Cattarelli M (2006) Fos and Egr1 expression in the rat brain in response to olfactory cue after taste-potentiated odor aversion retrieval. Learn Mem 13:150-160.

Dardou D, Datiche F, Cattarelli M (2007) Does taste or odor activate the same brain networks after retrieval of taste potentiated odor aversion? Neurobiol Learn Mem 88:186-197.

Datiche F, Cattarelli M (1996) Reciprocal and topographic connections between the piriform and prefrontal cortices in the rat: a tracing study using the B subunit of the cholera toxin. Brain

Desgranges B, Levy F, Ferreira G (2008) Anisomycin infusion in amygdala impairs consolidation of odor aversion memory. Brain Res 1236:166-175.

Desgranges B, Sevelinges Y, Bonnefond M, Lévy F, Ravel N, Ferreira G (2009) Critical role of insular cortex in taste but not odor aversion memory. Eur J Neurosci, in revision

Engel AK, Singer W (2001) Temporal binding and the neural correlates of sensory awareness. Trends Cogn Sci 5:16-25.

Ferreira G, Miranda MI, Cruz V, Rodriguez-Ortiz CJ, Bermudez-Rattoni F (2005) Basolateral amygdala glutamatergic activation enhances taste aversion through NMDA receptor activation in the insular cortex. Eur J Neurosci 22:2596-2604.

Ferry B, Di Scala G (1997) Bicuculline Administration into Basolateral Amygdala Facilitates Trace Conditioning of Odor Aversion in the Rat. Neurobiol Learn Mem 67:80-83.

Fontanini A, Katz DB (2005) 7 to 12 Hz Activity in Rat Gustatory Cortex Reflects Disengagement From a Fluid Self-Administration Task. J Neurophysiol 93:2832-2840.

Garcia J, Koelling R (1966) Learning with prolonged delay of reinforcement. Psychon Sci 5:121-122.
Grossman SE, Fontanini A, Wieskopf JS, Katz DB (2008) Learning-Related Plasticity of Temporal Coding in Simultaneously Recorded Amygdala-Cortical Ensembles. J Neurosci 28:2864-2873.
Gruber T, Tsivilis D, Montaldi D, Muller MM (2004) Induced gamma band responses: an early marker of memory encoding and retrieval. Neuroreport 15:1837-1841.
Haberly LB, Bower JM (1989) Olfactory cortex: model circuit for study of associative memory? Trends Neurosci 12:258-264.
Hanamori T, Kunitake T, Kato K, Kannan H (1998) Responses of neurons in the insular cortex to gustatory, visceral, and nociceptive stimuli in rats. J Neurophysiol 79:2535-2545.
Hernádi I, Karádi Z, Vígh J, Petykó Z, Egyed R, Berta B, Lénárd L (2000) Alterations of conditioned taste aversion after microiontophoretically applied neurotoxins in the medial prefrontal cortex of the rat. Brain Res Bull 53:751-758.
Hummel T, Heilmann S (2008) Olfactory event-related potentials in response to ortho- and retronasal stimulation with odors related or unrelated to foods. International Dairy Journal 18:874-878.
Hummel T, Heilmann S, Landis B, Reden J, Frasnelli J, Small DM, Gerber J (2006) Perceptual differences between chemical stimuli presented through the ortho- or retronasal route. Flavour Fragr J 21:42-47.
Illig KR (2005) Projections from orbitofrontal cortex to anterior piriform cortex in the rat suggest a role in olfactory information processing. J Comp Neurol 488:224-231.
Inui T, Shimura T, Yamamoto T (2006) Effects of Brain Lesions on Taste-Potentiated Odor Aversion in Rats. Behav Neurosci 120:590-599.
Kiefer S, Rusiniak K, Garcia J (1982) Flavor-illness aversions: gustatory neocortex ablations disrupt taste but not taste-potentiated odor cues. J Comp Physiol Psychol 96:540-548.
Krushel LA, Van Der Kooy D (1988) Visceral Cortex : Integration of the Mucosal Senses With Limbic Information in the Rat Agranular Cortex. J Comp Neurol 270:39-54.
Kronland-Martinet R, Morlet J, Grossmann A (1987) Analysis of sound patterns through wavelet transforms. Int J Patt Recog Artif Intell 1:273–302.
Lasiter PS, Deems DA, Glanzman DL (1985a) Thalamocortical relations in taste aversion learning: I. Involvement of gustatory thalamocortical projections in taste aversion learning. Behav Neurosci 99:454-476.
Lasiter PS, Deems DA, Garcia J (1985b) Involvement of the anterior insular gustatory neocortex in taste-potentiated odor aversion learning. Physiol Behav 34:71-77.
Mainy N, Kahane P, Minotti L, Hoffmann D, Bertrand O, Lachaux JP (2007) Neural correlates of consolidation in working memory. Hum Brain Mapp 28:183-193.
Majak K, Ronkko S, Kemppainen S, Pitkanen A (2004) Projections from the amygdaloid complex to the piriform cortex: A PHA-L study in the rat. J Comp Neurol 476:414-428.
Mallat, S. (1989) A theory for multiresolution signal decomposition: the wavelet representation. IEEE Trans Patt Anal Mach Intell 11:674–693.
Martin C, Beshel J, Kay LM (2007) An olfacto-hippocampal network is dynamically involved in odor-discrimination learning. J Neurophysiol 98:2196-2205.
Martin C, Gervais R, Messaoudi B, Ravel N (2006) Learning-induced oscillatory activities correlated to odour recognition: a network activity. Eur J Neurosci 23:1801-1810.
Martin C, Gervais R, Chabaud P, Messaoudi B, Ravel N (2004a) Learning-induced modulation of oscillatory activities in the mammalian olfactory system: The role of the centrifugal fibres. J Physiol Paris 98:467-478.
Martin C, Gervais R, Hugues E, Messaoudi B, Ravel N (2004b) Learning Modulation of Odor-Induced Oscillatory Responses in the Rat Olfactory Bulb: A Correlate of Odor Recognition? J Neurosci 24:389-397.

Melloni L, Molina C, Pena M, Torres D, Singer W, Rodriguez E (2007) Synchronization of neural activity across cortical areas correlates with conscious perception. J Neurosci 27:2858-2865.
Mickley GA, Kenmuir CL, Yocom AM, Wellman JA, Biada JM (2005) A role for prefrontal cortex in the extinction of a conditioned taste aversion. Brain Res 1051:176-182.
Miranda MI, LaLumiere RT, Buen TV, Bermudez-Rattoni F, McGaugh JL (2003) Blockade of noradrenergic receptors in the basolateral amygdala impairs taste memory. Eur J Neurosci 18:2605-2610.
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.
Nishijo H, Uwano T, Tamura R, Ono T (1998) Gustatory and multimodal neuronal responses in the amygdala during licking and discrimination of sensory stimuli in awake rats. J Neurophysiol 79:21-36.
Ogawa H, Ito S, Murayama N, Hasegawa K (1990) Taste area in granular and dysgranular insular cortices in the rat identified by stimulation of the entire oral cavity. Neurosci Res 9:196-201.
Pager J, Royet J (1976) Some effects of conditioned aversion on food intake and olfactory bulb electrical responses in the rat. J Comp Physiol Psychol 90:67-77.
Pager J (1974) A selective modulation of the olfactory bulb electrical activity in relation to the learning of palatability in hungry and satiated rats. Physiol Behav 12:189-195.
Pare D, Collins DR, Pelletier JG (2002) Amygdala oscillations and the consolidation of emotional memories. Trends Cogn Sci 6:306-314.
Paxinos G, Watson C (1998) The rat brain in stereotaxic coordinates. 4th ed Academic Press.
Pierce J, Halpern BP (1996) Orthonasal and Retronasal Odorant Identification Based upon Vapor Phase Input from Common Substances. Chem Senses 21:529-543.
Ravel N, Gervais R, Chapuis J, Martin C (2007) Oscillations and Plasticity in the olfactory system. 4th ed Encyclopedia of Neuroscience
Rolls ET, Baylis LL (1994) Gustatory, olfactory, and visual convergence within the primate orbitofrontal cortex. J Neurosci 14:5437-5452.
Roman C, Nino N, Aristide S, Reilly S (2006) Effects of lesions of the bed nucleus of the stria terminalis, lateral hypothalamus, or insular cortex on conditioned taste aversion and conditioned odor aversion. Behav Neurosci 120:1257-1267.
Roux SG, Cenier T, Garcia S, Litaudon P, Buonviso N (2007) A wavelet-based method for local phase extraction from a multi-frequency oscillatory signal. J Neurosci Methods 160:135-143.
Rozin P (1982) "Taste-smell confusions" and the duality of the olfactory sense. Percept Psychophys 31:397-401.
Schoenbaum G, Chiba AA, Gallagher M (1999) Neural Encoding in Orbitofrontal Cortex and Basolateral Amygdala during Olfactory Discrimination Learning. J Neurosci 19:1876-1884.
Schul R, Slotnick BM, Dudai Y (1996) Flavor and the frontal cortex. Behav Neurosci 110:760-765.
Sehatpour P, Molholm S, Schwartz TH, Mahoney JR, Mehta AD, Javitt DC, Stanton PK, Foxe JJ (2008) A human intracranial study of long-range oscillatory coherence across a frontal-occipital-hippocampal brain network during visual object processing. Proc Natl Acad Sci U S A 105:4399-4404.
Sevelinges Y, Sullivan RM, Messaoudi B, Mouly AM (2008) Neonatal odor-shock conditioning alters the neural network involved in odor fear learning at adulthood. Learn Mem 15:649-656.

Sevelinges Y, Moriceau S, Holman P, Miner C, Muzny K, Gervais R, Mouly AM, Sullivan RM (2007) Enduring effects of infant memories: infant odor-shock conditioning attenuates amygdala activity and adult fear conditioning. Biol Psychiatry 62:1070-1079.
Sevelinges Y, Desgranges B & Ferreira G (2009) The basolateral amygdala is necessary for the encoding and the expression of odor memory. Learn Mem, in press
Sewards TV, Sewards MA (2001) Cortical association areas in the gustatory system. Neurosci Biobehav Rev 25:395-407.
Shi C-J, Cassell MD (1998) Cortical, thalamic, and amygdaloid connections of the anterior and posterior insular cortices. J Comp Neurol 399:440-468.
Shipley MT, Geinisman Y (1984) Anatomical Evidence for Convergence of Olfactory, Gustatory, and Visceral Afferent Pathways in Mouse Cerebral Cortex. Brain Res Bull 12:221-226.
Slotnick BM, Westbrook F, Darling FMC (1997) What the rat's nose tells the rat's mouth: Long delay aversion conditioning with aqueous odors and potentiation of taste by odors. Anim learn Behav 25:357-369.
Small DM, Gerber JC, Mak YE, Hummel T (2005) Differential Neural Responses Evoked by Orthonasal versus Retronasal Odorant Perception in Humans. Neuron 47:593-605.
Small DM, Veldhuizen MG, Felsted J, Mak YE, McGlone F (2008) Separable substrates for anticipatory and consummatory food chemosensation. Neuron 57:786-797.
Small DM, Bender G, Veldhuizen MG, Rudenga K, Nachtigal D, Felsted J (2007) The role of the human orbitofrontal cortex in taste and flavor processing. Ann N Y Acad Sci 1121:136-151.
Sun BC, Halpern BP (2005) Identification of Air Phase Retronasal and Orthonasal Odorant Pairs. Chem Senses 30:693-706.
Tallon-Baudry C, Bertrand O (1999) Oscillatory gamma activity in humans and its role in object representation. Trends Cogn Sci 3:151-162.
Tallon-Baudry C, Bertrand O, Fischer C (2001) Oscillatory Synchrony between Human Extrastriate Areas during Visual Short-Term Memory Maintenance. J Neurosci 21:RC177.
Tronel S, Sara SJ (2003) Blockade of NMDA receptors in prelimbic cortex induces an enduring amnesia for odor-reward associative learning. J Neurosci 23:5472-5476.
Tronel S, Feenstra MG, Sara SJ (2004) Noradrenergic action in prefrontal cortex in the late stage of memory consolidation. Learn Mem 11:453-458.
Varela F, Lachaux JP, Rodriguez E, Martinerie J (2001) The brainweb: phase synchronization and large-scale integration. Nat Rev Neurosci 2:229-239.
Wilson DA (1998) Habituation of odor responses in the rat anterior piriform cortex. 79:1425-1440.
Winston JS, Gottfried JA, Kilner JM, Dolan RJ (2005) Integrated neural representations of odor intensity and affective valence in human amygdala. J Neurosci 25:8903-8907.
Yamamoto T, Yuyama N, Kawamura Y (1981) Cortical neurons responding to tactile, thermal and taste stimulations of the rat's tongue. Brain Res 221:202-206.
Yoshida I, Mori K (2007) Odorant category profile selectivity of olfactory cortex neurons. J Neurosci 27:9105-9114.

Etude 2.b. Dynamique des interactions cérébrales au cours du traitement distal du stimulus conditionnel olfactif

Les résultats précédents ont permis de mettre à jour une activité oscillatoire dans la bande de fréquence beta (15-40 Hz) commune à certaines des aires cérébrales que nous avons enregistrées. Son expression est modifiée au cours de l'apprentissage d'une aversion olfactive conditionnée selon un patron précis et dépendant de la façon dont l'animal a expérimenté le stimulus olfactif. Le but de l'analyse des synchronisations oscillatoires est de déterminer si l'activité oscillatoire induite par l'odeur est seulement le reflet d'un changement d'activité au sein d'une assemblée neuronale restreinte à chaque structure considérée ou si elle peut également être le signe d'une coopération fonctionnelle entre ces différentes aires cérébrales. Si tel est le cas, lorsque deux structures « oscillent » au même moment dans la bande beta, on devrait observer des accrochages de phase entre leurs activités oscillatoires, c'est-à-dire des moments où les activités sont liées de manière transitoire mais très précise. L'analyse présentée dans ce qui suit a donc porté sur les signaux obtenus dans l'étude précédente. Elle s'est donné pour objectif d'estimer, par une méthode qui sera décrite plus loin, l'évolution de ces calages en phase considérés comme des couplages fonctionnels inter-structures, dans les différentes conditions expérimentales.

Méthodologie

Les animaux, la procédure expérimentale et l'analyse des signaux pour chaque sites et chaque essai considéré sont les mêmes que ceux décrits dans l'étude précédente (voir publication jointe pour les détails).

Ce même jeu de données est cette fois soumis à une analyse visant à étudier la synchronisation de phase se produisant dans la bande de fréquence beta (15-40 Hz) entre les différentes paires d'électrodes considérées lors de l'échantillonnage distal de l'odeur pendant les 4 premières secondes de chaque essai.

Calcul du score de synchronisation pour chaque paire de structures

Cette méthode, développée par Samuel Garcia au sein du laboratoire s'apparente à celle décrite précédemment par Rudrauf *et al.* (2006). Elle permet de quantifier, à des échelles d'intégration temporelle très restreintes, le degré de synchronisation de deux signaux biologiques non stationnaires indépendamment de leur amplitude respective; elle est à ce titre particulièrement appropriée pour étudier les phénomènes de synchronisations cérébrales très transitoires tout en restant compatible avec des échantillons biologiques raisonnables.

Lorsque deux oscillations se produisent dans deux sites différents pendant une même fenêtre temporelle (autrement dit lorsque ces oscillations sont totalement ou partiellement recouvrantes dans le temps), leur correspondance de phase est déterminée par le calcul d'un score de synchronisation ***s***. Ce score correspond au module de la moyenne M dans le plan complexe de la différence de phase de deux oscillations :

$$M = 1/T \int_T e^{i[\phi_1(t) - \phi_2(t)]} dt$$

$$\boldsymbol{s} = |M|$$

où ϕ_1 et $\phi 2$ correspondent à la phase instantanée des oscillations 1 et 2, respectivement. ***s*** est une valeur comprise entre 0 (les deux oscillations ne présentent pas d'accrochage de phase) et 1 (les deux oscillations sont parfaitement calées en phase ou présentent un décalage de phase constant). La Figure 14 page suivante illustre ces différentes situations.

On assigne également à ***s*** une valeur de 0 lorsqu'aucune ou une seule oscillation est détectée entre les paires d'électrodes considérées ou lorsque deux oscillations sont détectées mais qu'elles ne sont pas recouvrantes temporellement.

Dans cette première phase de l'analyse, nous nous sommes intéressées à la synchronisation globale se produisant **s**ur toute la période des 4 premières secondes de l'essai où le rat est en contact avec l'odeur distale. Ainsi, si ce phénomène de synchronisation inter-structure se reproduit plusieurs fois pendant la période d'échantillonnage de l'odeur, les différents scores de synchronisation ***s*** sont sommés pour un essai considéré puis normalisés par la durée de la période d'échantillonnage (d) :

$$S(\text{essai}) = \Sigma \boldsymbol{s} / d$$

Le score de synchronisation globale S est ensuite moyenné et comparé entre les différentes conditions expérimentales.

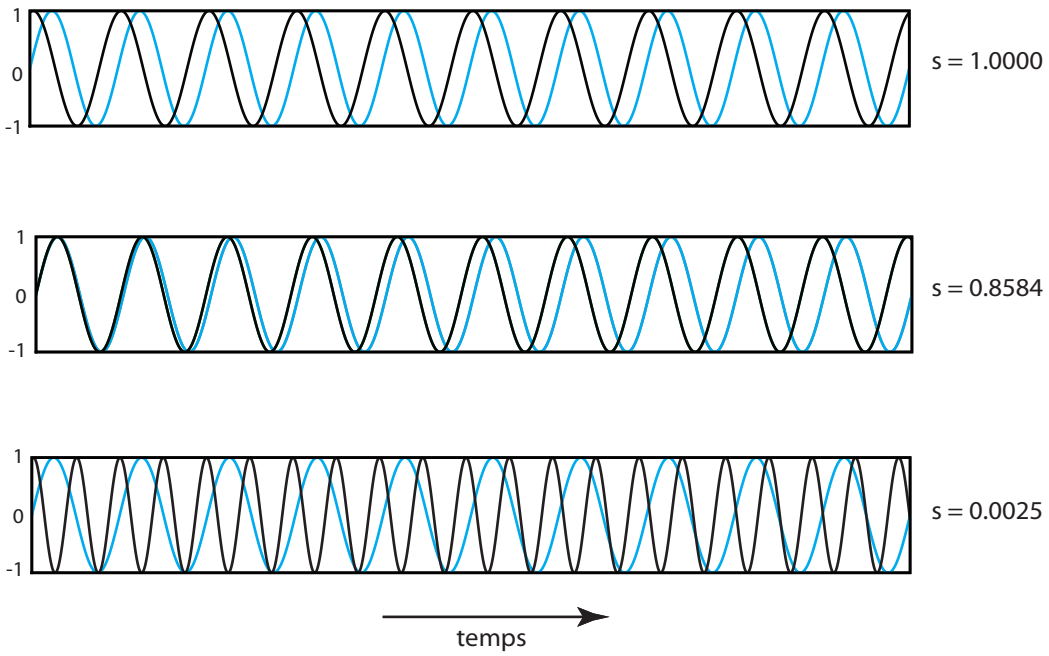


Figure 14. Exemples de situations illustrant l'obtention de différents scores de synchronisation pour deux activités oscillatoires considérées (en noir et en bleu). En haut, les deux oscillations présentent la même fréquence et une différence de phase constante. Au centre, les deux oscillations présentent des fréquences légèrement différentes conduisant à un bref accochage de phase. En bas, les deux oscillations ont des fréquences très différentes et ne présentent pas d'accrochage de phase.

Analyses statistiques

Nous nous sommes focalisés dans cette première analyse sur les changements de synchronisations oscillatoires se produisant chez les animaux ayant développé une aversion à l'odeur en distinguant le mode de conditionnement distal-proximal (groupe DP-D-a) ou distal (groupe D-D-a). Les scores de synchronisations moyens S sont comparés entre les sessions de conditionnement et de rappel par des tests *U* de Mann-Whitney pour données indépendantes. Chez certains animaux, des sites d'enregistrement ont du être écartés lorsque le positionnement de l'électrode révélé par histologie était incorrect ou lorsque le rapport signal sur bruit de l'électrode était insuffisant (perte de signal, apparition d'artéfacts). Le tableau 2 ci-après résume le nombre d'échantillons [en termes d'animaux (*n*) et d'essais (*m*)] que nous avons pu recueillir pour chaque paire d'électrode conservée et chaque condition expérimentale. En raison d'un

nombre trop faible d'animaux concernant les couples formés avec le cortex piriforme postérieur, nous ne présenterons pas de résultats sur cette structure.

Tableau 2.

	D-D-a		DP-D-a	
	CODITIONNEMENT			
	n(rats)	*m(essais)*	*n(rats)*	*m(essais)*
BO-CPA	5	89	5	83
BO-COF	5	73	2	38
BO-IL	5	89	5	93
BO-CIA	5	66	4	64
BO-CIG	6	80	5	68
BO-BLA	4	47	5	80
CPA-COF	4	59	2	38
CPA-IL	5	89	5	83
CPA-CIA	4	66	4	64
CPA-CIG	4	80	4	51
CPA-BLA	4	47	5	70
COF-IL	4	59	2	38
COF-CIA	4	36	1	19
COF-CIG	3	50	1	19
COF-BLA	4	47	2	38
IL-CIA	4	66	3	64
IL-CIG	4	80	3	51
IL-BLA	4	47	5	80
CIA-CIG	3	57	3	51
CIA-BLA	3	36	3	51
CIG-BLA	3	57	3	51
TEST(1+2)				
BO-CPA	5	73	4	65
BO-COF	5	70	2	30
BO-IL	5	73	5	79
BO-CIA	4	62	3	44
BO-CIG	4	67	4	54
BO-BLA	4	51	5	79
CPA-COF	4	51	2	30
CPA-IL	5	73	4	65
CPA-CIA	4	62	3	44
CPA-CIG	4	67	3	44
CPA-BLA	4	51	4	65
COF-IL	4	51	2	30
COF-CIA	3	40	2	30
COF-CIG	3	45	2	30
COF-BLA	4	51	2	30
IL-CIA	4	62	3	44
IL-CIG	4	67	3	44
IL-BLA	4	51	3	79
CIA-CIG	3	56	3	44
CIA-BLA	2	40	3	44
CIG-BLA	3	45	3	44

Résultats préliminaires

La figure 15 (pages 156 à 159) représente l'ensemble des scores de synchronisation moyens obtenus pour chaque couple de structures considérées en fonction de la session expérimentale (conditionnement et test de rappel) et du mode d'acquisition de l'apprentissage (AOC distale ou distale-proximale).
Le diagramme représenté figure 16 résume les différents effets observés.

Certains couples ne présentent aucune variation de leur degré de synchronisation en fonction de l'apprentissage. C'est le cas du bulbe olfactif et du cortex insulaire (quelque soit la sous-région considérée) ; ainsi, alors que nous avions pu observer une augmentation concomitante de puissance dans ces deux régions suite à l'apprentissage d'une AOC distale-proximale (voir Chapuis *et al.*, soumis), les présents résultats tendent à montrer que le couplage fonctionnel existant entre ces deux structures n'est pas augmenté par l'apprentissage. Ceci est également le cas du cortex insulaire (granulaire) et du cortex piriforme antérieur, du cortex insulaire (granulaire) et du cortex infralimbique, ainsi que du cortex insulaire (agranulaire) et du cortex orbitofrontal pour lesquels aucun effet de l'apprentissage n'a été quantifié.

Certaines paires de structures voient leur score de synchronisation fortement augmenté après apprentissage et ce quelque soit la façon dont l'animal a expérimenté l'odeur lors du conditionnement (distale ou distal-proximale): c'est le cas du BO avec le CPA, le COF et le BLA ; c'est aussi le cas du BLA avec le CPA, le COF et l'IL. Ainsi, une augmentation de la synchronisation globale du fait de l'acquisition d'une AOC semble émerger au sein d'un réseau formé par le BO, le CPA, le COF et le BLA.

Enfin, certaines paires de structures ont un score de synchronisation global beaucoup plus élevé après apprentissage uniquement si l'odeur a été ingérée le jour du conditionnement. De façon intéressante, on observe ainsi un renforcement de la synchronisation oscillatoire entre l'amygdale basolatérale et le cortex insulaire (quelque soit la sous-région) et ce uniquement lors du rappel d'une aversion distale-proximale. Le score de synchronisation est également augmenté uniquement dans cette condition entre le COF et l'IL et entre le COF et le cortex insulaire (granulaire) et entre les deux sous-régions de l'insulaire.

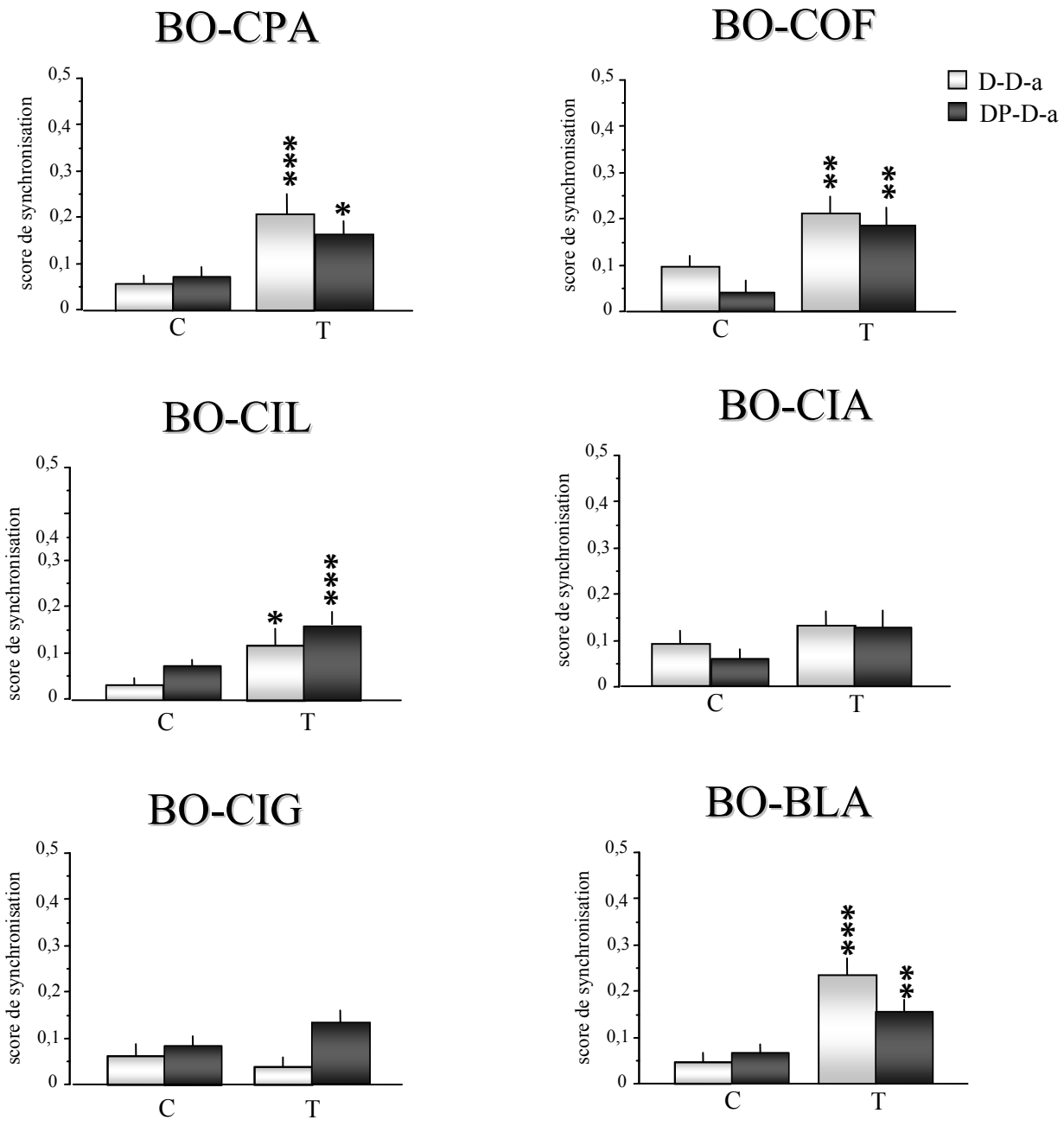


Figure 15. Evolution de la synchronisation oscillatoire en réponse à l'odeur au cours de l'apprentissage d'AOC. En ordonnée sont représentés les scores moyens (+ SEM) de synchronisation pour un couple de structures considérées. L'axe des abscisses représente la phase expérimentale considérée : C pour conditionnement et T pour les deux tests de rappel. Les résultats des rats appartenant au groupe D-D-a (animaux ayant développé une aversion olfactive après conditionnement en mode distal seul) sont représentés en blanc et ceux des rats appartenant au groupe DP-D-a (animaux ayant développé une aversion olfactive après conditionnement en mode distal-proximal) sont représentés en noir. Un astérisque indique une augmentation significative du score de synchronisation lors du test de rappel par rapport au conditionnement. * $p< 0.05$; ** $p< 0{,}01$; *** $p< 0.001$.

Figure 15 (suite)

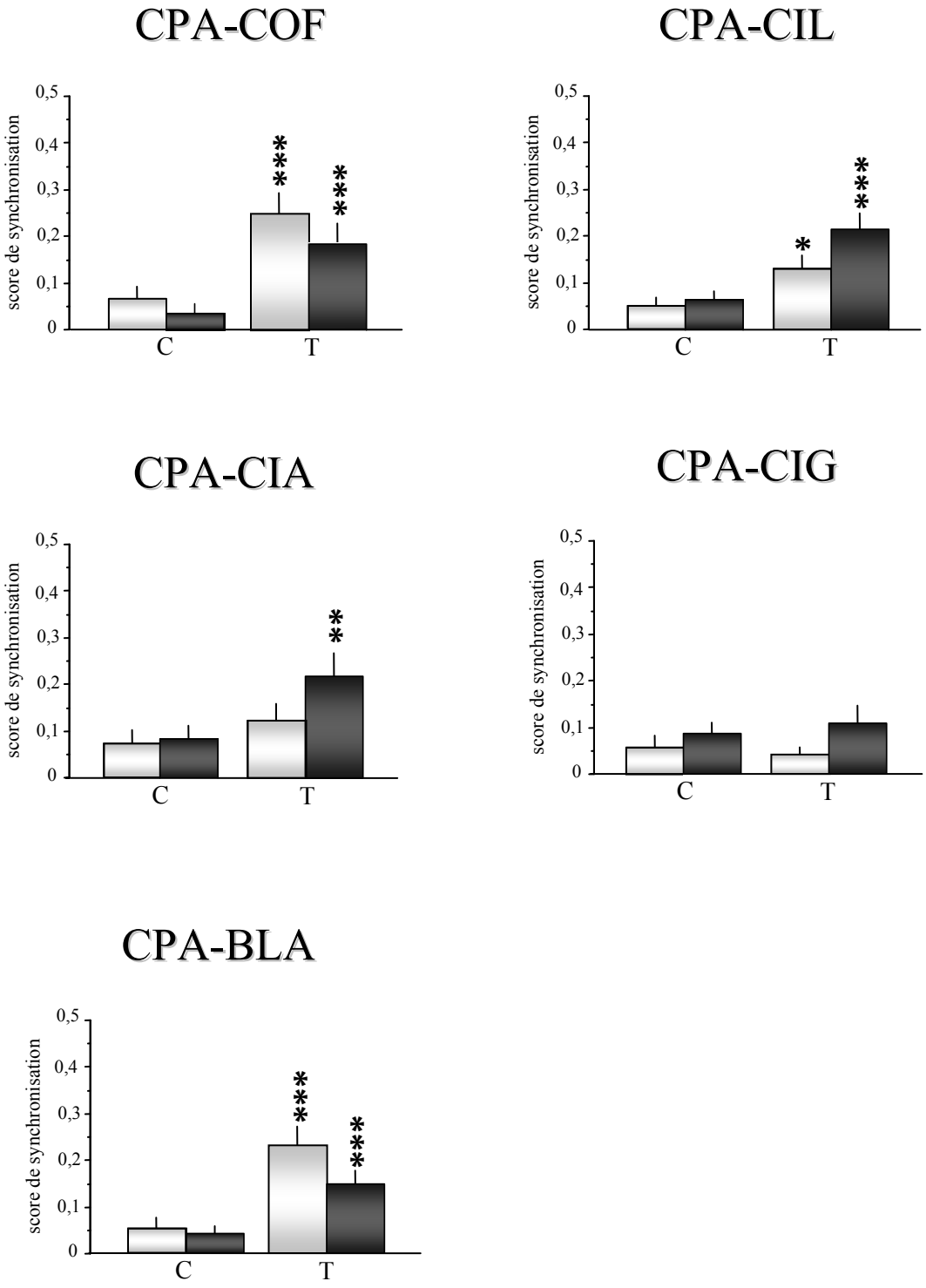


Figure 15 (suite)

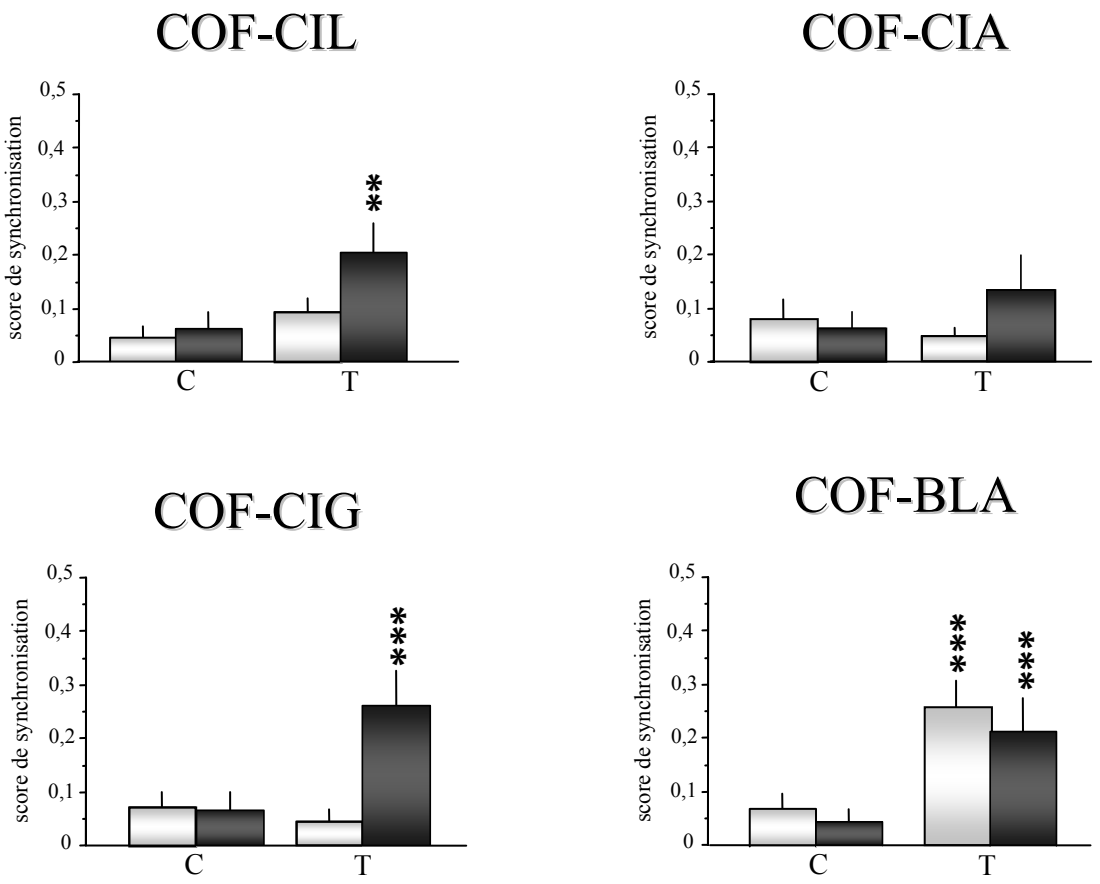
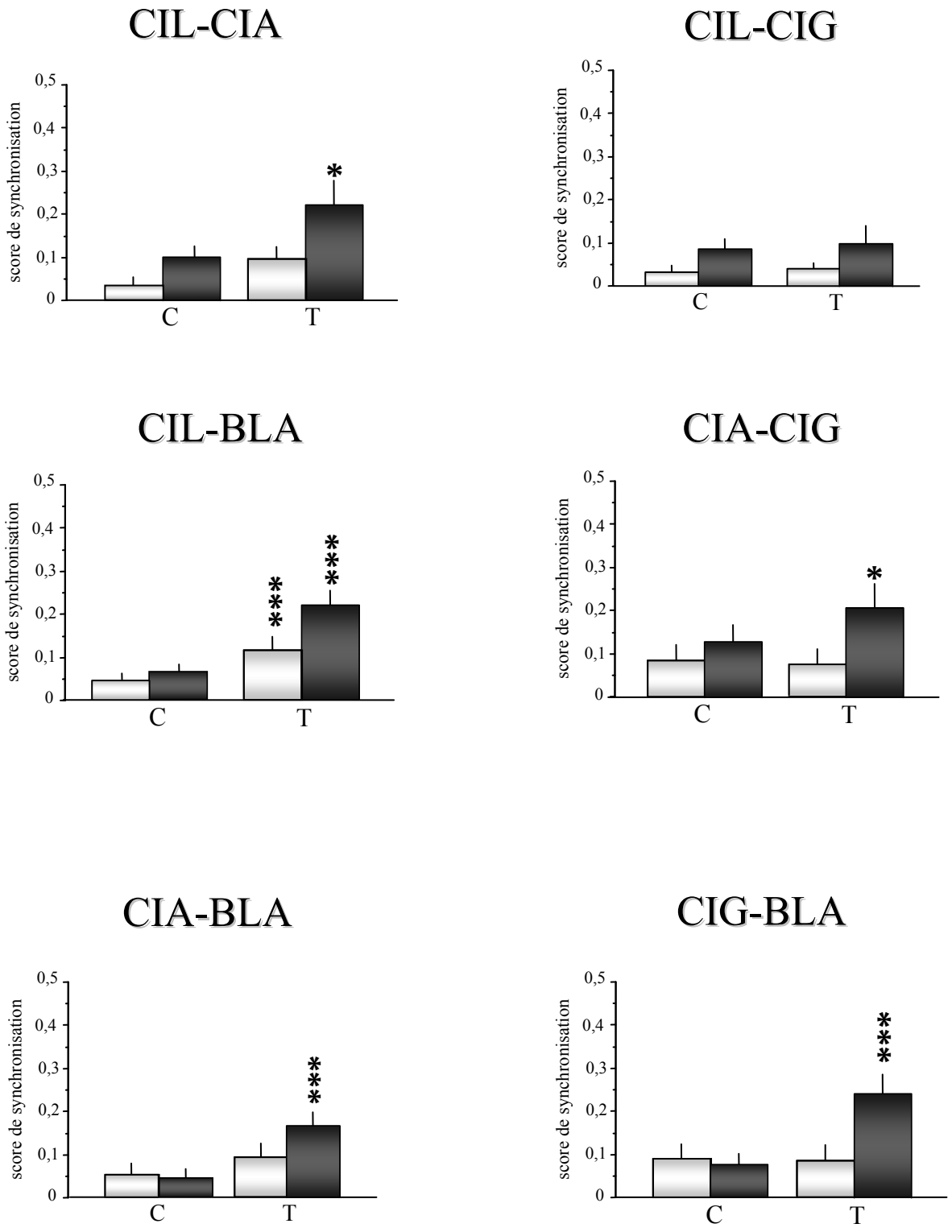


Figure 15 (suite)



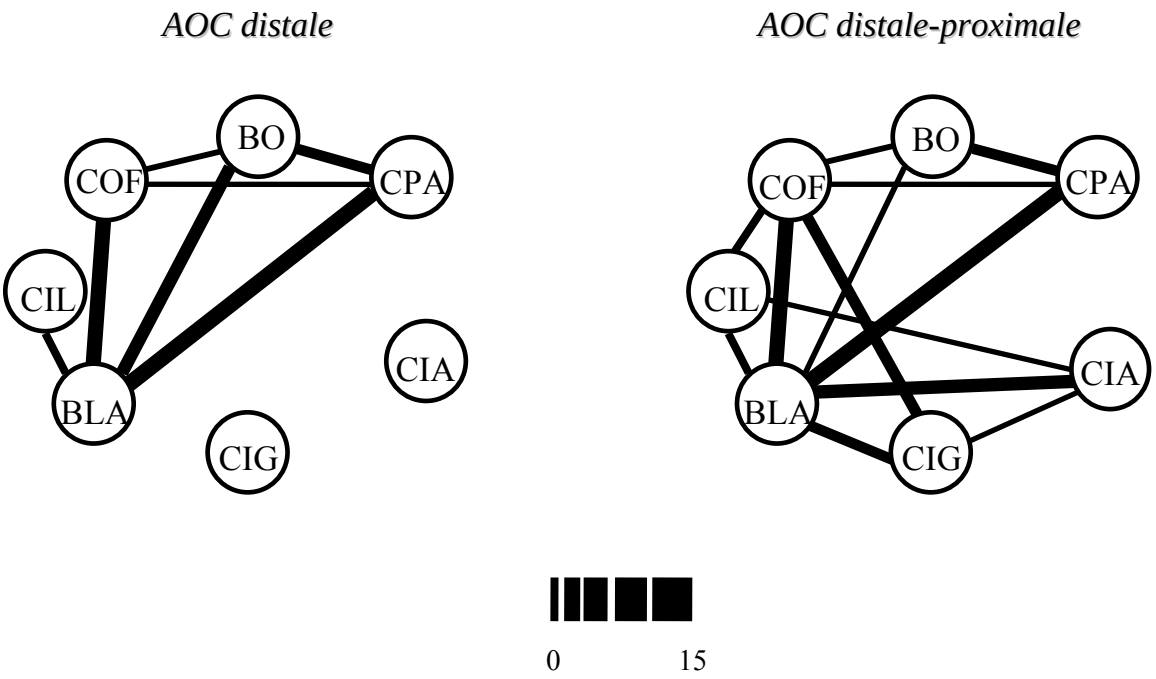


Figure 16. Diagramme des synchronisations oscillatoires au cours de l'apprentissage d'une AOC distale ou distale-proximale. Chaque trait représente une augmentation significative du score de synchronisation entre deux structures considérées lors de l'échantillonnage de l'odeur ; l'épaisseur du trait est proportionnelle à cette augmentation.

Conclusions

Bien qu'encore très partiels, ces premiers résultats semblent prometteurs car ils mettent en évidence un changement très clair de la synchronisation oscillatoire globale suite à l'apprentissage d'une aversion olfactive au sein des structures cérébrales que nous avons enregistrées. Des différences semblent également émerger selon la façon dont l'animal a expérimenté le stimulus olfactif. La confrontation de ces résultats à ceux analysant les changements produits au sein de chaque structure (Chapuis *et al.*, en révision) sera réalisée dans la discussion générale. Toutefois, d'autres analyses devront être effectuées pour nous permettre de décrire de manière plus précise la cinétique temporelle de ces couplages et leur rôle dans la mise en place de l'aversion olfactive conditionnée.

Discussion générale

1. Résumé des résultats obtenus

Les résultats obtenus dans nos conditions expérimentales renforcent l'idée que la sensibilité de l'AOC vis-à-vis de l'augmentation du délai SC-SI dépend des conditions de présentation du stimulus olfactif. Lorsque l'odeur est ingérée par l'animal, ce dernier est capable de l'associer au malaise gastrique même si ce malaise apparaît 2 heures après la consommation de la boisson odorisée. En revanche, cette association est impossible lorsque l'odeur n'est pas une caractéristique intrinsèque de la boisson et que le malaise ne suit pas immédiatement la consommation.

Notre étude comportementale apporte par ailleurs plusieurs éléments nouveaux concernant les caractéristiques de l'apprentissage d'aversion olfactive. Ainsi, pour la première fois, nous démontrons qu'une fois établie, l'AOC peut être très efficacement rappelée à l'animal par le seul indice olfactif distal. En outre, nous montrons également que l'aversion acquise est spécifique de l'odeur apprise et qu'elle reste intacte même après plusieurs semaines sans réexposition au stimulus conditionnel. Enfin, l'extinction totale de cet apprentissage ne peut être obtenue que lorsque la situation de rappel est présentée pendant six jours successifs.

Les résultats concernant les changements de dynamique oscillatoire induits par le traitement d'un stimulus olfactif confirment tout d'abord ceux précédemment obtenus par l'équipe dans les aires olfactives (Chabaud *et al.*, 2000 ; Ravel *et al.*, 2003 ; Martin *et al.*, 2004a,b, 2006) à savoir que l'échantillonnage d'une odeur induit dans le bulbe olfactif et le cortex piriforme (antérieur et postérieur) un changement de la dynamique oscillatoire qui préside à l'état de repos. En effet, la présence de l'odeur induit un écrasement des bouffées oscillatoires de fréquence gamma (60-90 Hz) et l'émergence d'une activité oscillatoire dans la bande de fréquence beta (15-40 Hz). Pour la première fois, nous montrons que ce type d'activité oscillatoire beta se retrouve également dans un ensemble de régions cérébrales au-delà des aires olfactives primaires: l'amygdale basolatérale, le cortex orbitofrontal, le cortex préfrontal médian et le cortex insulaire. Au niveau de ce cortex, la réponse oscillatoire beta induite par l'odeur avant qu'elle ait été associée au malaise est observée uniquement dans la zone qui reçoit des afférences olfactives (région agranulaire) mais pas dans la zone qui n'en reçoit pas (région granulaire). Cette activité oscillatoire commune observée lors du conditionnement définit un premier réseau de structures cérébrales impliquées dans le traitement du stimulus olfactif.

L'apprentissage d'une aversion olfactive conditionnée va très fortement amplifier cette activité oscillatoire beta. Ces résultats confirment le lien prédictif qui avait déjà pu être établi par notre équipe entre l'amplitude de ces bouffées et le niveau d'apprentissage d'un animal (Martin *et al.*, 2004a). Il est intéressant de noter que les protocoles utilisés jusqu'à présent mettaient en œuvre des apprentissages nécessitant plusieurs jours pour être maîtrisés. Or nous montrons ici que l'émergence d'une activité beta de forte amplitude peut se produire même dans le cadre d'un apprentissage olfactif très rapide, après une seule association odeur-malaise. En outre, les changements de puissance de l'activité beta observés pendant les premières secondes d'échantillonnage de l'odeur sont prédictifs (à l'échelle de l'essai considéré) d'une absence totale ou quasi-totale de consommation lorsque la pipette devient accessible, c'est-à-dire d'un comportement caractérisant l'aversion.

En résumé, ces résultats montrent que les oscillations de la bande beta sont associées d'une part au traitement même du stimulus olfactif et d'autre part à la signification qu'il a acquise par apprentissage. La représentation cérébrale du stimulus, qui par définition combine ses différentes dimensions, pourrait ainsi être sous-tendue par les structures exprimant sélectivement cette activité beta.

De fait, la comparaison de cette activité neuronale avant et après que l'odeur ait été associée au malaise gastrique sur l'ensemble des structures étudiées montre que la modulation de l'activité beta due à l'apprentissage ne s'exprime pas de la même façon dans toutes les aires cérébrales enregistrées selon la façon dont l'animal a expérimenté le stimulus olfactif le jour du conditionnement. Ainsi, lorsque l'odeur a été apprise comme un indice distal de la boisson, nous observons lors du rappel de l'AOC une augmentation significative de puissance des oscillations beta dans le bulbe olfactif, le cortex piriforme, le cortex orbitofrontal et l'amygdale basolatérale mais pas dans le cortex insulaire (agranulaire ou granulaire) ni dans le cortex infralimbique. En revanche, lorsque l'odeur a été expérimentée à la fois par voie orthonasale (distale) et par voie rétronasale (proximale), l'intégralité du réseau (*i.e.* BO, CPA, CPP, COF, BLA, CIL, CIA) montre une forte augmentation de l'amplitude des bouffées beta après apprentissage. Les résultats préliminaires concernant l'étude des synchronisations oscillatoires entre les différentes structures du réseau tendent à montrer un renforcement des interactions fonctionnelles après apprentissage mais là encore très dépendant du mode de stimulation utilisé. De manière originale, l'ensemble de ces données montre que la présentation d'un même indice olfactif lors du rappel de l'apprentissage peut ne pas recruter les mêmes aires cérébrales selon la façon dont il a été expérimenté lors du conditionnement.

Dans la suite de cette discussion, après avoir examiné certains aspects méthodologiques liés à nos travaux, nous discuterons l'apport de nos résultats issus de l'étude électrophysiologique par rapport aux données de la littérature, en soulignant dans quelle mesure ils participent à une meilleure compréhension des réseaux cérébraux impliqués dans l'apprentissage de l'AOC. A partir de l'ensemble de ces éléments, nous essaierons de dégager un modèle neurobiologique pouvant rendre compte des circuits centraux sous-tendant l'expression d'une aversion vis-à-vis de l'odeur.

2. Considérations méthodologiques

2.1. Intérêts et limitations du modèle comportemental

2.1.1 Le stimulus odorant

L'odeur que nous avons choisie d'utiliser comme stimulus conditionnel de l'AOC est l'acétate d'isoamyle. Ce stimulus odorant (qui rappelle la banane) est couramment utilisé dans le domaine de l'olfaction en raison de sa capacité à évoquer une carte d'activation bulbaire assez large (cf. http://leonlab.bio.uci.edu/). De plus, les travaux de Scott *et al.* (2007) ont montré que cet odorant pouvait induire une réponse de l'épithélium et du bulbe olfactif à la fois par voie orthonasale mais aussi par voie rétronasale. Concernant la voie rétronasale, les récents travaux de Gautam & Verhagen (2008) chez le rat montrent qu'elle est également stimulée (en termes d'activation de la couche glomérulaire au niveau du BO) lorsque cet odorant n'est pas directement présentée sous forme gazeuse mais, comme nous l'avons utilisé ici, sous une forme diluée dans l'eau.

La concentration d'odorant (environ 10% de vapeur saturante) que nous avons introduite dans le flux d'air au niveau du port à odeur conduit à une stimulation olfactive évaluée à notre nez d'intensité modérée. D'un point de vue physiologique, la pression de vapeur utilisée n'atteint pas *a priori* les seuils de stimulation physiologique du système trigéminal tels qu'ils ont pu être déterminés par des travaux antérieurs (Doty *et al.* 1975, 1978 ; Sylver & Moulton, 1982). Toutefois, chez le rat éveillé, la concentration exacte de molécules odorantes atteignant la muqueuse olfactive est difficilement maitrisable par l'expérimentateur puisqu'elle

est au final déterminée par l'animal lui-même en fonction de la durée de son échantillonnage et surtout de la façon plus ou moins active dont il va flairer le stimulus. D'un point de vue comportemental, nous n'avons pas observé d'évitement spontané de l'odeur par les animaux, comme cela peut être le cas lorsque les intensités de stimulations sont perçues comme trop intenses.

Ce même odorant a été dilué dans l'eau de boisson dans notre situation d'apprentissage distale-proximale. Conformément aux travaux de Slotnick *et al.* (1997), la concentration utilisée (0.01%) produit une perception olfactive rétronasale mais n'est pas perçue via la stimulation des systèmes gustatif et trigéminal. Nous n'avons pas non plus observé de néophobie (*i.e.* un comportement de réticence spontanée à consommer cette boisson nouvelle) dans la situation où le rat devait ingérer l'odeur.

2.1.2. Comparaison des situations expérimentales distale et distale-proximale

Dans ce paragraphe, nous discuterons des différences qui existent entre les situations expérimentales distale et distale-proximale et tenterons d'évaluer si ces différences peuvent expliquer les comportements observés.

Dans un premier temps, il convient de discuter de la *quantité* de stimulation à laquelle les rats sont soumis le jour du conditionnement en fonction du mode de présentation de l'odeur. En effet, nous ne pouvons pas exclure que la combinaison des deux stimulations, distale et proximale, puisse maximiser les chances de produire une AOC simplement parce que la quantité de stimulation olfactive est plus grande que dans le cas d'une stimulation unique. Ceci pourrait justifier pourquoi l'odeur est gardée en mémoire plus longtemps et peut être associée au malaise même si celui-ci est différé. Toutefois, d'autres études ont observé qu'une présentation proximale permet à elle seule l'introduction de longs délai SC-SI (Slotnick *et al.*, 1997 ; Desgranges *et al.*, 2009). En outre, d'un point de vue des réponses électrophysiologiques que nous avons pu observer lors du conditionnement, aucune différence (ni en terme de puissance des oscillations ni en terme de synchronisation inter-structure) n'a été observée entre les groupes stimulés de façon distale ou distale-proximale lors des premières secondes d'échantillonnage de l'odeur.

Concernant la *durée* des stimulations distale ou distale-proximale, elles correspondent toutes deux à 30 s pour un essai considéré (c'est-à-dire 30 s de stimulation distale à laquelle peut se rajouter 26 s de stimulation proximale liée à la consommation de l'eau odorisée). Que ce soit dans notre étude comportementale ou électrophysiologique, nous avons pu vérifier que les animaux appartenant à ces différents groupes ne font pas plus d'essais dans une situation que dans l'autre le jour du conditionnement, ce qui pourrait justifier d'une stimulation olfactive plus longue rapportée à l'ensemble de la séance expérimentale. Ces données excluent donc l'hypothèse que la durée d'exposition au stimulus olfactif soit à l'origine des différences comportementales observées (en termes de possibilité d'introduire de longs délais SC-SI). On peut ajouter que, contrairement à l'hypothèse de Bitterman (1975), il ne semble pas que des traces de nourriture regagnent la cavité buccale après ingestion (pour revue voir Garcia *et al.*, 1976) ce qui prolongerait arbitrairement la durée de la stimulation rétronasale après la fin de la séance expérimentale et raccourcirait ainsi l'intervalle SC-SI.

Dans un second temps, il convient de discuter dans quelle mesure les deux stimulations (ortho- et rétronasale) que nous distinguons sont indépendantes l'une de l'autre.

Dans la situation distale, l'animal va effectivement inhaler, pendant les phases d'inspiration, les molécules odorantes de manière orthonasale (stimulation produisant un balayage antérograde de la muqueuse olfactive). Toutefois, lors des phases d'expiration, ces mêmes molécules pourront emprunter le sens de circulation inverse, c'est-à-dire produire une excitation rétrograde de la muqueuse et ainsi 'mimer' une stimulation rétronasale. Selon ce constat, peut-on réellement distinguer les deux types de stimulations ? Au regard de différents travaux effectuées chez l'Homme (voir Introduction, Chapitre 1, point 1.2.2.), il apparaît que les sujets sont capables de localiser la source odorante comme provenant de leur nez ou de leur bouche alors même qu'ils ne peuvent se baser sur des indices somatosensoriels (Heilmann & Hummel, 2004 ; Small *et al.*, 2005 ; Frasnelli *et al.*, 2008). Dans ces études, il est important de noter que les auteurs n'ont pas synchronisé leurs stimulations olfactives ortho- ou rétronasales avec une phase particulière du rythme respiratoire du sujet (*e.g.* des stimulations orthonasales systématiquement calées avec l'inspiration...). Au contraire, ces stimulations ont été délivrées de manière aléatoire au cours du cycle respiratoire. Une fois la délivrance des molécules odorantes terminée, celles-ci vont naturellement être véhiculées par les flux d'air liés au rythme respiratoire du sujet. Au final, *quelque soit le moment où a été délivrée la stimulation*, les sujets restent capables de localiser la provenance de la source odorante. Ces résultats permettent de soutenir l'hypothèse qu'il existe effectivement une différence entre la perception orthonasale et

la perception rétronasale même si l'on admet que dans la perception orthonasale on ne peut exclure un balayage de la muqueuse en sens inverse au moment de l'expiration (Small *et al.*, 2005).

Inversement, lors de la présentation d'une boisson odorisée mettant en jeu une situation proximale seule (non expérimentée ici, mais utilisée par d'autres auteurs: Slotnick *et al.*, 1997 ; Inui *et al.*, 2006 ; Desgranges *et al.*, 2009), n'existe-t'il pas tout de même une discrète stimulation orthonasale ? En effet, il ne peut être exclu que quelques molécules odorantes diluées dans l'eau soient libérées sous forme gazeuse et puissent contaminer l'air situé autour de la pipette de boisson ; à l'approche de celle-ci, les animaux pourraient déjà détecter l'odeur de manière orthonasale. Il faudrait, pour confirmer ou infirmer cette hypothèse dans ces différents paradigmes, coder de manière plus précise le comportement d'approche de l'animal: quelle est sa latence pour aller boire le liquide odorisé, flaire-t'il l'embout de la pipette de manière plus prolongée le jour du test, etc.

Pour conclure sur ce point nous dirons que dans la situation distale comme dans la situation distale-proximale, le premier indice analysé par l'animal est perçu majoritairement de façon orthonasale. Toutefois, dans la situation distale-proximale, la perception rétronasale de l'odeur vient compléter cette perception orthonasale ce qui n'est pas le cas lorsque l'odeur n'est pas mélangée à l'eau de boisson. De manière générale, nos résultats soutiennent l'idée que la condition essentielle pour qu'un SC olfactif puisse être associé avec un malaise différé est qu'il soit expérimenté par l'animal comme une caractéristique intrinsèque de la boisson, c'est-à-dire mis en bouche au même titre qu'un SC gustatif (Slotnick *et al.*, 1997). Cependant, il reste tout à fait possible que la *congruence* des deux éléments olfactifs (le même odorant étant en effet délivré en distal et en proximal) ait pu dans notre situation aider le rat à former plus facilement une représentation de 'l'aliment' dans son ensemble. Ceci pourrait aussi expliquer pourquoi une fois formée cette représentation globale de l'aliment puisse être réévoquée par le seul stimulus distal. Cette hypothèse sera discutée dans la partie 3.5. de la discussion au regard des processus associatifs mis en jeu lors de l'apprentissage d'AOC.

2.1.3. La réponse comportementale d'aversion à l'odeur

Dans la littérature, deux grandes méthodes sont utilisées pour mesurer l'expression de l'aversion alimentaire du rongeur. La première (la plus couramment utilisée) est celle que nous

avons employée ici et qui consiste à laisser à l'animal le choix de décider de consommer ou non la boisson caractérisée par une odeur ou un goût. Dans cette méthode, l'efficacité de l'apprentissage peut être quantifiée de deux façons différentes. Le jour du rappel, on peut soit représenter la même boisson à l'animal et mesurer le pourcentage de chute de sa consommation par rapport à celle obtenue le jour du conditionnement ; il s'agit d'un test de détection dit 'à une bouteille' (*e.g.* Desgranges *et al.*, 2009). On peut aussi proposer à l'animal un test de discrimination dit 'à deux bouteilles', c'est-à-dire lui donner le choix entre la solution préalablement utilisée comme SC ou une autre solution (jamais associée à un malaise gastrique) et mesurer le rapport entre les consommations des deux solutions (*e.g.* Ferry *et al.*, 1995). Cette dernière situation est intéressante pour limiter l'influence que pourrait avoir la restriction hydrique sur la mesure de l'aversion. Il est en effet courant d'imposer à l'animal une légère déprivation hydrique pour s'assurer d'une consommation raisonnable de la solution nouvelle le jour du conditionnement (pour revue voir Royet, 1983). Cependant, si cette restriction est trop importante, la soif de l'animal peut aller jusqu'à masquer son refus de consommer la solution dangereuse lorsque seule cette boisson lui est offerte au moment du rappel. Dans notre situation expérimentale (études 1 et 2), nous avons effectivement pu observer que même si la diminution de leur consommation était très forte (témoignant d'une AOC puissante), les animaux des groupes expérimentaux ne présentaient pas (en moyenne) une consommation totalement nulle le jour du test. L'analyse du comportement des animaux essai par essai nous a permis d'observer que les essais réalisés en tout début de la séance de test ont effectivement été suivis d'une prise hydrique En manipulant la déprivation hydrique nous aurions sans doute pu renforcer le niveau d'aversion. Nous aurions pu par exemple, comme, Slotnick et al. (1997) l'ont fait, faire précéder la phase de test d'une séance de prise de boisson afin de mesurer l'aversion des animaux sans que celle-ci rentre en compétition avec une trop grande déprivation hydrique. Toutefois, même si cela n'était pas prévu notre situation expérimentale s'est révélée particulièrement intéressante pour corréler les changements de dynamique oscillatoire avec la manifestation, essai par essai, du comportement aversif de l'animal (voir point 2.2.2. ci après).

Quoiqu'il en soit, que l'on se place dans un test à une ou deux bouteilles, l'animal conserve le choix dans ces deux situations de décider de consommer ou non la boisson. Ainsi on considère que ces deux paradigmes mettent en jeu une réponse de l'animal correspondant à un *évitement conditionné* de l'aliment (Parker *et al.*, 2008).

D'autres auteurs préfèrent utiliser une seconde méthode. Celle-ci consiste à mesurer la réaction comportementale de l'animal lorsque celui-ci est contraint d'ingérer la solution

nauséeuse. Pour cela, l'expérimentateur infuse directement dans la bouche de l'animal cette solution et codifie l'aversion du rongeur par l'observation de mimiques faciales caractéristiques d'une *réaction de dégoût conditionnée* (Grill & Norgren, 1978 ; Pelchat *et al.*, 1983 ; Grossman *et al.*, 2008 ; Parker *et al.*, 2008) tels que des 'bâillements' ou l'agitation de la mâchoire inférieure. Toutefois, cette deuxième méthode apparaît beaucoup moins écologique si l'on tient compte du fait que dans la nature, l'animal n'est jamais contraint dans sa prise alimentaire et qu'il peut se baser sur les indices distaux de la nourriture avant de choisir de la consommer. En outre, comme d'autres auteurs l'ont critiqué auparavant (pour revue Parker *et al.*, 2008), il est probable que le rejet de la nourriture basé sur la non-palatabilité de l'aliment (c'est à dire le dégoût éprouvé par sa consommation) et le rejet de la nourriture basé sur l'anticipation des conséquences négatives de son ingestion mettent en jeu des processus cognitifs différents.

Tous les résultats obtenus dans cette thèse se replacent dans le contexte des processus qui permettent à l'animal d'éviter de consommer une nourriture sur la base d'un indice distal sans la consommer. Plus largement, ils posent la question de la représentation neuronale d'un stimulus sensoriel ayant acquis par expérience une valeur de signal. Nous n'excluons pas que ce stimulus lui-même puisse également engendrer une réaction de dégout vis-à-vis de la nourriture présentée mais rien dans notre travail n'a été mis en œuvre pour adresser ce point spécifique

2.2. Intérêts et limitations de l'approche électrophysiologique

2.2.1. Le signal de potentiel de champ local

L'enregistrement simultané chez l'animal vigile des activités oscillatoires de type potentiel de champ local (PCL), au sein de plusieurs régions cérébrales distinctes constitue une méthode d'anatomie fonctionnelle dont la résolution temporelle très fine permet d'étudier des phénomènes très transitoires liés au traitement neuronal de l'information (Ravel, 2008). Toutefois, contrairement à d'autres méthodes d'imagerie cérébrale (imagerie métabolique par le 2-déoxyglucose en IRMf chez l'Homme, marquage de la protéine c-fos chez l'animal…) cette approche ne permet d'étudier que l'activité d'un nombre limité de structures, déterminées *a priori*. En outre, ce nombre dépend de la quantité d'électrodes qu'il est physiquement possible d'implanter chez un animal et du nombre de signaux qu'il est possible de recueillir avec la chaîne d'acquisition.

Même si l'origine exacte du signal de potentiel de champ local est encore discutée, le PCL peut être défini comme un signal extracellulaire reflétant la somme algébrique des très nombreux champs de courants qui se superposent au voisinage de l'électrode. Ces champs de courants naissent des différents phénomènes électriques qui résultent des échanges entre l'intérieur des neurones et le milieu extracellulaire. Par conséquent, le potentiel de champ local prend en compte l'ensemble des mécanismes qui se produisent dans le réseau cellulaire enregistré: les potentiels synaptiques, les potentiels d'action générés par des centaines de neurones, mais aussi les oscillations sous-liminaires des potentiels de membrane. Contrairement aux activités unitaires qui matérialisent la sortie du neurone, le potentiel de champ est plutôt considéré comme le reflet de l'intégration des activités afférentes (excitatrices et inhibitrices) se produisant au niveau du site d'enregistrement lors du traitement d'une information (Mitzdorf, 1985; Bressler & Kelso, 2001; Logothetis, 2003). Dans une récente étude, Katzner *et al.*, (2009) ont tenté d'estimer le volume de tissu échantillonné lors de l'enregistrement du PCL ; bien que le résultat dépende des caractéristiques de l'électrode (plus celle-ci sera impédante et plus elle aura tendance à capter l'activité neuronale très proche), les auteurs montrent que 95 % du signal provient d'un volume de tissu situé à moins de 300 µm autour de la pointe de l'électrode. Nos résultats dans le cortex insulaire confirment qu'il est possible de différencier, avec cet outil, l'activité de différentes zones corticales contigües (Lakatos *et al.*, 2005).

Enfin, bien que la mesure du PCL ne nous renseigne pas sur la contribution individuelle des neurones du groupe cellulaire échantillonné avec l'électrode, elle a l'avantage de nous renseigner sur leur coopération au sein de la population. En effet, l'émergence d'une activité oscillatoire sur un site donné peut être considérée comme le reflet d'une coordination cellulaire plus importante au sein de la structure via la mise en synchronie des éléments neuronaux au voisinage de la zone d'enregistrement (pour revues : Bressler & Kelso, 2001 ; Varela *et al.*, 2001 ; Ravel *et al.*, 2007). L'architecture synaptique des régions enregistrées est un point important pour l'observation d'activités rythmiques synchronisées (Bazhenov *et al.*, 2008). Plus particulièrement, la génération d'activités oscillatoires (excepté dans le cas où elle est due à des neurones pacemaker comme par exemple dans le thalamus) est liée à une récurrence entre des mécanismes excitateurs et inhibiteurs (Jefferys *et al.*, 1996 ; Salinas & Sejnowski, 2001). Ces mécanismes existent dans les différentes aires cérébrales que nous avons étudiées, que ce soit dans le bulbe olfactif (boucle granule-mitrale), dans les différents cortex (interactions entre les interneurones inhibiteurs et les cellules pyramidales) ou dans l'amygdale (interactions entre les interneurones inhibiteurs et les neurones de projections). Notre approche ne nous permet

cependant pas, à ce stade, de déterminer de façon précise les mécanismes cellulaires mis en jeu dans la genèse des oscillations que nous avons pu observer au sein des différentes structures.

2.2.2. Lien entre les activités oscillatoires et le comportement

Notre analyse s'est focalisée sur les deux rythmes oscillatoires beta (15-40 Hz) et gamma (60-90 Hz) pour lesquels l'équipe avait déjà pu montrer des changements d'expression corrélés à la mise en place d'un apprentissage olfactif discriminatif dans les aires olfactives.

Concernant les bouffées oscillatoires gamma caractéristiques de l'activité spontanée au sein des aires olfactives, nous avons, conformément aux travaux précédents, observé qu'elles s'écrasaient lors de l'échantillonnage d'une odeur, qu'elle ait ou non acquis une valence biologique particulière (Chabaud *et al.*, 2000 ; Ravel *et al.*, 2003 ; Martin *et al.*, 2004a). Dans l'étude de Ravel *et al.* (2003), les rats étaient entraînés dans une tâche de discrimination olfactive de type Go-NoGo dans laquelle 2 odeurs devaient acquérir par apprentissage une valence différente (signalant soit une récompense soit une punition). Lorsque les animaux maîtrisaient parfaitement la tâche, l'écrasement des bouffées gamma dans le BO était beaucoup plus important que lors du stade naïf ; il était même possible d'observer cet écrasement légèrement avant le début de l'échantillonnage de l'odeur. Contrairement à ces observations, nous n'avons pas pu dans cette expérience caractériser une dépression plus forte du gamma après l'apprentissage de l'aversion olfactive conditionnée (quelque soit le mode d'établissement). Les caractéristiques des deux paradigmes expérimentaux sont peut être à l'origine de ces différences. En effet, dans la tâche de Go-NoGo, la présentation des deux odeurs se faisait dans un ordre aléatoire au cours de la séance, tandis que dans notre cas la même odeur a été systématiquement présentée à chaque essai de la session comportementale; en conséquence, l'échantillonnage de l'odeur n'a pas le même enjeu comportemental dans les deux situations: dans la tâche instrumentale de discrimination, le rat est en recherche de l'information qui lui indiquera s'il peut ou non avoir accès à une récompense ; dans la tâche d'aversion en revanche, l'odeur présentée ne change pas et constitue au fil des essais une information stable associée à la consommation de la solution. Il est donc possible que l'attention de l'animal au moment de l'échantillonnage soit plus importante dans la première situation que dans la deuxième. Ces résultats seraient en accord avec le fait que les bouffées d'activité gamma

peuvent être reliées à l'état interne de l'animal et à sa connaissance du contexte expérimental dans lequel les odeurs sont délivrées (Martin *et al.*, 2004a). En dehors des aires olfactives (BO et CP), nous n'avons pas observé dans notre tâche de modification notable du rythme gamma dans les autres structures étudiées.

Concernant les caractéristiques des oscillations induites par l'odeur dans la bande beta (15-40 Hz), nous avons pu observer que leur amplitude suivait de manière très précise le comportement de l'animal au cours de l'AOC.
Contrairement au paradigme de GoNoGo décrit précédemment (Ravel *et al.*, 2003) où la durée de l'échantillonnage était relativement courte et conditionnée par la performance de l'animal (le temps pour lui de reconnaître la valence de l'odeur), l'analyse vidéo nous a révélé que le rat restait de manière stable en face du port à odeur pendant la plus grande partie de la période de 4 s où la pipette n'était pas encore accessible. De fait, la manifestation des activités beta induites par le stimulus ne s'exprimait non pas par l'émergence d'une bouffée isolée mais plutôt sous la forme d'une succession de bouffées de forte amplitude se manifestant à chaque fois que l'animal se repositionnait dans le flux odorisé. Pour cette raison, et dans la perspective d'analyser finement les interactions dynamiques au sein des différentes structures, nous avons choisi de ne pas nous limiter comme cela avait été le cas dans les études antérieures à la bouffée d'énergie maximum mais de travailler sur l'ensemble des bouffées oscillatoires se produisant pendant toute la période d'échantillonnage, c'est-à-dire pouvant être mises en relation avec l'échantillonnage du stimulus.

Nous nous sommes intéressés à différents paramètres permettant de caractériser cette activité oscillatoire: l'amplitude moyenne des oscillations au cours de l'essai, la probabilité de voir apparaître au moins une bouffée signifiante pendant l'essai, leur nombre total pendant la durée de l'échantillonnage. Tous ces paramètres évoluent de la même façon en fonction du niveau et du mode d'apprentissage. Pour cette raison, nous avons seulement présenté ici les résultats concernant la modulation de puissance des oscillations. Après apprentissage de l'AOC, la probabilité que l'odeur induise une activité oscillatoire beta va augmenter de manière significative. Ces activités se font plus nombreuses pour un même essai et leur puissance est fortement amplifiée et finement corrélée au comportement de l'animal.

En effet, même si l'animal, au travers de la réduction de sa consommation est jugé globalement aversif à l'issue de la séance de rappel (c'est-à-dire si une chute d'au moins 50 % de sa consommation totale est mesurée par rapport au conditionnement) et qu'il évite de

consommer la solution dans la majorité des essais, les tous premiers essais de la session s'accompagnent d'une petite consommation. Comme nous l'avons déjà souligné (voir le point 2.1.3. précédent), ceci s'explique sans doute parce que la déprivation engendre une forte motivation à consommer qui rentre en compétition avec l'anticipation des conséquences négatives de cette consommation. Toutefois, l'analyse essai par essai, montre que les changements de puissance maximum dans la bande beta pendant l'échantillonnage de l'odeur distale sont prédictifs d'une absence de consommation lors de l'essai considéré.

Ces résultats suggèrent trois considérations intéressantes. D'une part, en accord avec les précédentes interprétations de l'équipe, l'activité beta émerge, en parallèle de la réponse d'évitement, dans un réseau neuronal spécifique, en réponse à un stimulus olfactif ayant acquis une signification par apprentissage (indice d'une nourriture dangereuse). Elle constitue donc un marqueur de plasticité et signale les aires cérébrales dont le fonctionnement s'est modifié du fait de l'apprentissage. Ce réseau de structures ne s'exprime pas de façon systématique en réponse à la présentation du stimulus sensoriel mais semble dépendre du traitement cognitif que l'animal en fait au moment considéré. Lors des tous premiers essais de la séance de rappel, dans les cas où l'animal consomme, on peut constater que l'examen des tracés ne révèle pas d'amplification des bouffées beta. Comme nous l'avons souligné dans ce qui précède, même s'il reste difficile de savoir ce qui se passe, il est vraisemblable que la forte motivation à consommer lors de ces essais s'oppose à une analyse correcte de la signification du stimulus ou même que l'attention portée au stimulus est trop faible. Enfin, l'analyse dans les deux situations expérimentales considérées de la topographie des modulations en puissance de cette activité beta en réponse à un seul et même indice distal met à jour deux réseaux partiellement recouvrants qui reflètent les différences entre les deux expériences de l'odeur que les animaux ont pu faire. Ceci considéré, il nous semble possible de faire l'hypothèse que l'activité oscillatoire beta représente la signature des circuits neuronaux impliqués dans la représentation neuronale du stimulus construite en prenant en compte à la fois ses caractéristiques sensorielles et sa valeur de signal comportementalement acquise.

3. Le réseau cérébral de l'AOC

Dans ce paragraphe, nous essaierons de dégager quel peut être le rôle fonctionnel des différentes régions cérébrales que nous avons étudiées et dont nous avons pu montrer que le fonctionnement, en terme d'activité oscillatoire, est modifié suite à l'apprentissage de l'AOC. Nous terminerons en essayant de replacer ces structures dans le fonctionnement global des réseaux dynamiques mis à jour et proposerons un modèle rendant compte des différents processus associatifs pouvant se produire lors de l'apprentissage.

Il est important de rappeler ici que qu'elle que soit la condition expérimentale ayant conduit à l'AOC nos analyses portent toujours sur ce qui se passe lors de la présentation distale du stimulus avant que la solution ne puisse être consommée. En conséquence, lorsque nous comparons la condition distale seule et la condition distale-proximale, ce que nous observons concerne uniquement ce qui se passe lors du traitement d'un stimulus perçu de manière distale. Ce qui différencie les deux situations c'est « l'histoire » de l'animal vis-à-vis de ce stimulus c'est-à-dire qu'il ait ou non été associé lors du conditionnement avec une perception proximale du même stimulus.

3. 1. Un réseau commun aux deux types de conditionnement

Les travaux de Scott *et al.* (2007) chez le rat anesthésié ont montré que la présentation d'une odeur de manière ortho- ou rétronasale pouvait conduire à des différences d'activation des neurorécepteurs de l'épithélium olfactif et de la réactivité des cellules mitrales au sein du bulbe olfactif. Les récents travaux d'imagerie calcique de Gautam & Verhagen (2008) chez le rat contraint éveillé tendent à préciser cette observation. En comparant l'activation glomérulaire dans les deux situations de présentation, les auteurs montrent que les réponses sont finement modulées par le comportement d'échantillonnage mis en jeu, à savoir l'intensité du flairage de l'odeur distale ou la façon plus ou moins active dont l'animal va boire le liquide odorisé. Nous n'avons pas, dans le cadre de notre travail, pu observer de différence de dynamique oscillatoire dans le bulbe olfactif entre les deux situations expérimentales distale ou distale-proximale. Toutefois, il faut préciser que nous n'avons jamais analysé de manière directe le traitement cérébral de la perception de l'odeur proximale en raison des artefacts de licking. En conclusion, il est donc possible que l'activité du BO soit effectivement différente pendant l'*exposition* à une odeur présentée de manière ortho- ou rétronasale mais lorsque l'odeur est représentée de

manière distale, l'analyse de l'activité oscillatoire échantillonnée au niveau d'un seul site du bulbe olfactif ne permet pas de savoir si l'animal a ou non ingéré l'odeur le jour du conditionnement. Etant donné le mode de représentation des odeurs au niveau de cette structure, on ne peut écarter l'hypothèse que la représentation du SC soit différente dans les deux situations mais qu'il ne nous ait pas été possible de la mettre à jour avec un seul site d'enregistrement

Il est en revanche clair que l'activité du BO est modifiée par l'apprentissage de l'aversion alimentaire olfactive (Pager & Royet, 1976) mais cet effet se produit quelle que soit la façon dont l'odeur a été apprise (Chapuis *et al.*, en révision). Ces résultats sont à intégrer dans le contexte plus général du comportement alimentaire où la réactivité des cellules principales du BO est connue pour être modulée par le statut métabolique de l'animal (faim, satiété) ainsi que par la valeur alimentaire ou non alimentaire de l'odeur ; par exemple, les travaux de Pager (1974) montrent qu'une odeur neutre *a priori* peut devenir palatable (*i.e.* acquérir une valeur alimentaire) lorsque l'animal est nourri avec un aliment auquel on a ajouté le composé odorant ; en parallèle, ce dernier acquiert la capacité d'activer beaucoup plus fortement la réponse des cellules mitrales du BO. De la même façon, on peut observer que dans notre situation, une odeur biologiquement neutre *a priori* comme l'acétate d'isoamyle a pu rentrer dans la sphère 'alimentaire' de l'animal même si c'est pour y occuper une valeur de signal négatif. Il serait intéressant d'évaluer si le seuil de détection olfactive du SC a pu être amélioré par l'apprentissage de l'AOC comme cela a été montré lors d'apprentissages de type perceptifs (Fletcher & Wilson, 2002).

Pour la première fois, nous mettons en évidence que l'activité oscillatoire beta du cortex piriforme dans son ensemble est fortement amplifiée suite à l'apprentissage d'une aversion olfactive. Ces résultats sont en accord avec les précédents travaux de l'équipe dans d'autres types d'apprentissages olfactifs mettant en jeu une discrimination entre deux odeurs (Ravel *et al.*, 2003 ; Martin *et al.*, 2004b, 2006). Toutefois, dans notre étude, cette amplification des oscillations beta a été observée de manière équivalente dans le cortex piriforme antérieur et dans le cortex piriforme postérieur sans qu'il soit possible de retrouver de différence entre ces deux régions comme cela avait pu être observé auparavant (Chabaud *et al.*, 2000 ; Martin *et al.*, 2006). Nos résultats rejoignent sur ce point les travaux de Dardou *et al.* (2007) qui ont montré que le marquage de la protéine Fos lors du rappel d'une aversion olfactive potentialisée par le goût était augmenté (par rapport aux animaux contrôles) de façon importante dans les deux sous-régions du cortex piriforme.

Les travaux de la littérature indiquent que la subdivision antérieure du CP (qui est la cible majoritaire des projections du BO) aurait pour fonction principale de détecter et de coder la qualité olfactive et pourrait être impliqué dans des phénomènes d'habituation ou les apprentissages perceptifs (Wilson, 2000, 2003, Zinyuk *et al.*, 2001 ; Roesch *et al.*, 2007) alors que le CP postérieur serait spécialisé dans la mémorisation et le rappel d'associations entre un stimulus olfactif et d'autres informations sensorielles, constituant à ce titre un cortex associatif à part entière (Calu *et al.*, 2007 ; pour revue voir Haberly, 2001).

Une hypothèse proposée pour expliquer pourquoi nos travaux et ceux de Dardou *et al.* (2007) ne permettent pas de détecter cette différence fonctionnelle entre les deux sous-régions du CP pourrait être que le type de tâche que nous avons utilisé ne met pas en jeu le même traitement du système olfactif. Dans notre cas, l'animal n'a jamais à discriminer des stimulus différents pour produire une réponse adaptée mais simplement à détecter la présence d'un signal de danger. Afin de tester cette hypothèse, il serait intéressant d'utiliser le test de rappel de l'AOC 'à deux bouteilles' décrit précédemment.

L'amygdale basolatérale est une structure centrale dans l'acquisition des aversions alimentaires aussi bien olfactives (Bermudez-Rattoni *et al.*, 1986 ; Ferry & Di Scala, 1997 ; Sevelinges *et al.*, 2009) que gustatives (Gallo *et al.*, 1992 ; Miranda *et al.*, 2002 ; Ferreira *et al.*, 2005). Elle est également nécessaire au développement des apprentissages alimentaires appétitifs (Touzani & Sclafani, 2005). Nos expériences montrent de façon originale que la réponse de cette structure cérébrale aux stimulations odorantes est modifiée lors du rappel d'une aversion alimentaire olfactive par rapport au traitement de ce même stimulus le jour du conditionnement. En accord avec ce qui avait été décrit précédemment (pour revue voir Paré *et al.*, 2002), notre étude confirme aussi que l'amygdale est une structure dans laquelle les activités oscillatoires sont liées aux phénomènes de plasticité qui s'expriment lors d'un apprentissage. En effet, lors du rappel d'une AOC établie en mode distal ou distal-proximal, les oscillations beta induites par l'odeur au sein de cette formation neuronale sont très fortement amplifiées en réponse à la présentation du stimulus conditionnel. C'est même dans cette région que l'effet de l'apprentissage est le plus visible en termes d'augmentation de puissance des activités beta induites.

Enfin, différentes études suggèrent que le cortex orbitofrontal (COF) est impliqué dans l'intégration de stimuli sensoriels visant à permettre à l'animal de planifier et d'adapter ses comportements. Par exemple, dans une tâche de Go-NoGo basée sur une discrimination

olfactive, certaines cellules du COF répondent spécifiquement aux odeurs lorsque celles-ci ont acquis par apprentissage la valeur d'un signal indiquant à l'animal soit une récompense soit une punition (Schoenbaum *et al.*, 1999, 2002). Dans notre situation, le COF pourrait donc à la fois participer au traitement du stimulus olfactif comme cela a été démontré chez l'Homme (pour revue voir Gottfried, 2007 ; Shepherd, 2007) mais également participer à la planification de la réponse comportementale d'évitement de l'odeur.

En conclusion, nos résultats suggèrent la présence d'un réseau formé par le BO, le CP, le BLA et le COF sous-tendant le rappel de l'AOC quelque soit le mode d'apprentissage du SC. Au vu de la littérature, ces différentes régions pourraient avoir été sollicitées tout au long de l'apprentissage aversif (intégration des différentes informations sensorielles, association SC-SI, rappel de l'aversion et élaboration de la réponse comportementale) et former par le biais de leur collaboration dynamique le réseau neuronal de base impliqué dans la construction d'une représentation cérébrale du SC olfactif.

3. 2. Un réseau sélectif lié à l'ingestion de l'odeur

Comme nous l'avons présenté dans l'introduction de ce mémoire, le cortex insulaire représente un carrefour pour les différentes informations sensorielles mises en jeu dans le comportement alimentaire (Sewards & Sewards, 2001). Il est capable d'intégrer les informations gustatives, olfactives et tactiles rencontrées lors de l'ingestion de l'aliment mais également les sensations viscérales liées aux conséquences de sa consommation. Chez l'Homme, de nombreuses études d'imagerie fonctionnelle ont montré que ce cortex s'activait lors de la perception d'une odeur (*e .g.* Cerf-Ducastel *et al.*, 2001 ; De Araujo *et al.*, 2003 ; Small *et al.*, 2005).

Nos résultats apportent des éléments nouveaux concernant l'implication du cortex insulaire dans l'apprentissage d'aversion olfactive conditionnée. Nous montrons en effet que l'ensemble du CI (agranulaire et granulaire) peut être sollicité lors du rappel de l'AOC en réponse au SC si et seulement si l'odeur a été ingérée au moment du conditionnement.

Ces résultats peuvent paraître contradictoires au regard des données de la littérature. En effet, la lésion ou l'inactivation transitoire de l'insulaire (dans son ensemble) ne produit pas de perturbation ni de l'acquisition de l'AOC (Kiefer *et al.*, 1982 ; Desgranges *et al.*, 2009) ni de son rappel (Desgranges *et al.*, 2009) et ce même dans une situation ou l'odeur a pourtant été

présentée de façon proximale (Desgranges *et al.*, 2009). Ces résultats pourraient s'expliquer par la différence des approches neurobiologiques utilisées et donc par les mécanismes cérébraux qu'elles peuvent précisément révéler. Il reste bien sûr possible, au vu de nos résultats, que le cortex insulaire soit activé mais ne soit pas indispensable à l'établissement et à l'expression de l'aversion olfactive parce que ces différentes étapes reposent justement sur la participation d'un large réseau et que lorsque ce cortex est défaillant d'autres structures du réseau peuvent prendre le relais. D'un autre point de vue, il est également envisageable que le CI ne soit pas indispensable pour l'association spécifique d'une odeur et d'un malaise gastrique mais qu'il participe néanmoins au rappel de l'AOC par le biais d'autres associations, comme nous en ferons l'hypothèse dans ce qui suit (3.5.).

Au sein du cortex préfrontal médian, nous nous sommes limités pour cette étude à l'enregistrement des activités oscillatoires dans le cortex infralimbique (CIL). Dardou *et al.* (2007) avaient montré une augmentation de l'immunomarquage de la protéine Fos au sein de cette structure lors du rappel de l'aversion olfactive potentialisée par le goût. Dans notre expérience, tout comme le CI, le CIL a montré une augmentation de puissance sélective de l'activité beta lors du rappel d'une AOC acquise en condition distale-proximale. Peu d'éléments dans la littérature nous permettent pour l'instant d'expliquer cette différence. Une hypothèse possible s'appuie sur le fait que le CIL constitue un cortex viscéromoteur capable de contrôler la motilité gastro-intestinale par son action sur le noyau du tractus solitaire (Terreberry & Neafsey, 1983 ; VanEden & Buijs, 2000). Il est donc envisageable que le CIL soit impliqué dans une sorte de 'préparation viscérale' de l'animal à peut être devoir consommer une nourriture qu'il a reconnu comme pouvant justement lui procurer un malaise viscéral. Cet effet pourrait être spécifiquement exprimé dans la condition ou l'odeur a été apprise en étant ingérée.

Il pourra être intéressant dans l'avenir de s'intéresser cette fois plus spécifiquement au cortex prélimbique dont la lésion a été rapportée comme perturbant la consolidation d'un apprentissage olfactif basé sur l'association d'une odeur et d'une récompense (Tronel *et al.*, 2004).

3. 5. Vers un modèle de l'AOC

Dans ce travail, l'étude des modifications des activités oscillatoires a permis de mettre à jour différents sous-réseaux cérébraux qui pourraient sous-tendre la représentation du même

stimulus en fonction de la manière dont il a été associé lors de la consommation aux conséquences post-ingestives négatives de son ingestion. Au vu de nos résultats, l'hypothèse que nous proposons est que **les réseaux que nous avons observés diffèrent parce qu'ils rendent compte de différents processus associatifs présidant à l'apprentissage d'une AOC.**

Avant apprentissage, le jour du conditionnement, la présentation d'une odeur (distale) induit l'émergence d'activités oscillatoires dans la bande beta dans le BO, le CP, le BLA, le COF, le CIL et la partie agranulaire du CI ; ce patron d'activation est comparable à ce qui a été observé chez l'Homme par des études d'imagerie (Zatorre *et al.*, 1992 ; Zald & Pardo, 1997 ; Gottfried *et al.*, 2002; Royet *et al.*, 2003; Shepherd, 2007). En accord avec ces travaux, **ces activations pourraient témoigner du réseau sous-tendant le traitement d'une information olfactive dans un contexte expérimental de prise alimentaire.** Après apprentissage, la perception de cette même odeur va évoluer ; elle n'est plus un simple indice olfactif mais a acquis la capacité d'évoquer, dans leur ensemble, les différents attributs de l'expérience alimentaire qui a été faite quelques jours auparavant. Ces attributs sont de différente nature ; il peut s'agir des sensations expérimentées lors de la consommation de l'aliment, autrement dit dans notre cas les sensations olfactives rétronasales et/ou tactiles de l'ingestion de la boisson. Il peut également s'agir des sensations gastriques nociceptives conséquentes à l'ingestion de cette même boisson. L'amplification sélective des oscillations beta induites par la perception de l'odeur distale lors du rappel pourraient témoigner de ces différents attributs.

Nous avons vu dans un premier temps que le réseau formé par l'ensemble BO-CP-BLA-COF dépendait de l'association effective entre le stimulus conditionnel et le malaise gastrique. Ce réseau fonctionnel n'est pas dépendant du fait que l'odeur soit, en plus de l'indice distal, ingérée ou non lors du conditionnement. Nous proposons que **ce réseau puisse témoigner du rappel en mémoire du malaise gastrique évoqué par la présentation de l'odeur.**
L'étude des scores de synchronisations appuie cette hypothèse en montrant un renforcement sélectif du couplage fonctionnel entre tous les différents acteurs de ce réseau ; cependant, il est à noter que le couple formé par le cortex piriforme et l'amygdale basolatérale est celui dont le score de synchronisation augmente le plus après apprentissage (voir Résultats, Etude 2.b.). Si on fait le parallèle avec ce qui se passe dans le cas de l'aversion gustative conditionnée, où l'importance du cortex insulaire gustatif et de l'amygdale basolatérale, ainsi que leur relation fonctionnelle, a été bien démontrée (Gallo *et al.*, 1992 ; Ferreira *et al.*, 2005 ; Desgranges *et al.*,

2009), il est possible que, de manière analogue, le couplage entre le cortex olfactif (CP) et l'amygdale basolatérale soit le processus central de l'aversion olfactive conditionnée. En effet, tout comme le CI, le CP n'est pas seulement impliqué dans le codage du stimulus sensoriel mais représente une structure associative et d'intégration capable de plasticité et susceptible de moduler son activité en réponse au SC (Gottfried *et al.*, 2002; Jones *et al.*, 2007; Li *et al.*, 2008; Sevelinges *et al.*, 2004). Pour tester cette hypothèse, il serait par exemple intéressant d'injecter dans le CP un antagoniste des récepteurs NMDA lors de l'acquisition pour observer si la plasticité dans ce cortex est effectivement essentielle au développement de l'AOC. On pourrait également reproduire l'étude de Ferreira *et al.* (2005) ; il s'agirait cette fois d'observer si un effet facilitateur de l'injection de glutamate dans l'amygdale avant l'induction du malaise par une faible dose de LiCl peut être renversé par l'injection de ce même antagoniste des récepteurs NMDA dans le CP.

Même si le COF ne semble pas indispensable à l'acquisition ou au rappel de l'AOC (Ferreira *et al.*, observations personnelles), nos résultats indiquent qu'il reste néanmoins au centre de ce réseau par les relations qu'il établit à la fois avec le CP et le BLA (Datiche & Cattarelli, 1996 ; Shi & Cassel, 1998 ; Illig, 2005) ; et comme le suggère Gottfried (2007), le COF se trouve dans une situation privilégiée pour assimiler les expériences olfactives et émotionnelles et permettre de produire des réponses comportementales adaptées.

Dans un deuxième temps, nous avons vu que le réseau formé par le cortex insulaire (dans son ensemble) et le cortex infralimbique n'était engagé que lorsque l'odeur a été ingérée le jour du conditionnement ; nous faisons l'hypothèse que **l'activation de ce réseau de structures sous-tend le rappel en mémoire de l'ingestion de l'odeur évoquée par la présentation de l'odeur distale lors du rappel.** En effet, comme le suggèrent les travaux présentés en introduction (chapitre 1, point 1.2.), les différents attributs sensoriels de l'aliment (expérimentés lors des phases d'exploration distale et consommatoire) peuvent se combiner en mémoire : la présentation d'un seul de ces attributs (ici l'odeur distale), peut suffire à évoquer les autres sensations (ici l'odeur proximale et la sensation tactile) pour se représenter l'aliment dans son ensemble ; c'est ainsi qu'une odeur de fraise va, après plusieurs expériences alimentaires, pouvoir nous évoquer une sensation sucrée (Prescott, 1999 ; Prescott *et al.*, 2004 ; Verhagen & Engelen, 2006 ; Auvray & Spence, 2008). A ce niveau, on peut se poser la question de savoir pourquoi le CI granulaire (correspondant au cortex gustatif) est également activé lors du rappel de l'aversion olfactive distale-proximale. La première explication pourrait venir d'un

renforcement des relations fonctionnelles entre les deux-sous régions de l'insulaire ; en effet, notre analyse a montré que le score de synchronisation entre les régions granulaire et agranulaire du CI était fortement augmenté après apprentissage de l'AOC distale-proximale uniquement. La seconde hypothèse propose que l'odeur ingérée lors du conditionnement puisse 'activer' le système gustatif. Les travaux de Slotnick *et al.* (1997) montrent que le seul système gustatif ne peut pas permettre la détection sensorielle de l'odeur présente dans la boisson à la concentration que nous avons utilisée. Toutefois, si l'on se réfère aux études psychophysiques chez l'Homme (Murphy *et al.*, 1977 ; Murphy & Cain , 1980 ; Rozin, 1982 ; Burdach *et al.*, 1984), une stimulation olfactive rétronasale pourrait néanmoins être *perçue* comme un goût (en terme d'illusion sensorielle) et de fait activer les zones normalement dédiées au traitement de ce stimulus (voir aussi Small *et al.*, 2005). En outre, cette hypothèse peut également être liée au fait que notre condition combine des stimulations olfactives et somatosensorielles puisque d'une part nous avons dilué l'odeur dans du liquide et que d'autre part le CI granulaire contient également des neurones qui répondent à la stimulation tactile de la cavité buccale (Yamamoto *et al.*, 1981; Hanamori *et al.*, 1998).

Cependant, si ce réseau formé par le CI et le CIL dépend de l'ingestion de l'odeur, il est important de noter que son activation dépend également de la force du comportement d'aversion exprimée. Nous avons en effet constaté, comme pour les structures du premier réseau (BO, CP, BLA, COF), que les réponses oscillatoires atteignaient leur maximum dans ces deux structures lorsqu'elles précédaient un comportement d'évitement total. Ce réseau formé par le CI et le CIL n'est donc pas indépendant de l'apprentissage aversif puisque nous n'avons pas non plus constaté de telles activations pour les rats ayant effectivement expérimenté l'odeur en distal-proximal lors du conditionnement mais chez lesquels l'association SC-SI avait échoué. **Il est donc possible qu'au travers du rappel de l'odeur ingérée, le malaise gastrique soit lui-même ré-évoqué à l'animal de manière indirecte.**

Si tel est le cas, nous nous placerions dans une situation qui rappelle la théorie de l'association intra-composite proposée par Durlarch & Rescorla (1980) (voir Introduction, Chapitre 2, point 2.1.2.). Selon cette théorie, il se produirait la formation de trois associations lors du conditionnement alimentaire: une association odeur distale-odeur proximale, une association odeur distale-malaise et une association odeur proximale-malaise. Lors du test, la présentation de l'odeur distale pourrait ainsi rappeler le malaise soit directement en réactivant la trace de l'association odeur distale-malaise (voie supportée par l'activation de l'ensemble BO-CP-BLA-COF), soit indirectement en réactivant la trace des associations odeur distale-odeur proximale puis odeur proximale-malaise (sous-tendue par l'ensemble CI-CIL). Cette théorie avait à

l'origine été proposée pour expliquer la potentialisation de l'odeur par le goût, c'est-à-dire pourquoi il est possible d'obtenir une forte aversion à l'odeur distale dans le cas de longs délais SC-SI si l'odeur est expérimentée en même temps qu'un goût lors du conditionnement (Palmerino *et al.*, 1980 ; Rusiniak *et al.*, 1982 ; Ferry *et al.*, 1995 ; Dardou *et al.*, 2007). Ceci reste bien sûr une hypothèse, mais il est envisageable que lors notre étude comportementale, dans la condition de longs délais SC-SI, nous nous étions également placés dans un cas de '*potentialisation de l'odeur distale par l'odeur proximale'*. Les deux réseaux que nous avons mis à jour ne seraient toutefois pas sans relation fonctionnelle l'un envers l'autre, comme en témoigne les renforcements des scores de synchronisation ; en effet, même si on observe une augmentation de la synchronisation entre le cortex insulaire agranulaire et le cortex infralimbique, cette augmentation reste modérée comparativement à celle obtenue entre l'amygdale basolatérale et le cortex insulaire dans la condition distale-proximale.

4. Conclusion générale

En conclusion nos résultats ont permis d'offrir pour la première fois une vue d'ensemble du fonctionnement d'un certain nombre d'aires cérébrales au cours de l'AOC. Les interactions fonctionnelles au sein de ces différentes régions pourraient sous-tendre les différentes associations relatives à l'expérience alimentaire de l'animal.

Ce travail soulève deux considérations générales importantes. Dans un premier temps, nos données attestent le fait que les activités oscillatoires semblent être un moyen efficace pour pister la plasticité dans un réseau. En effet, ces activités peuvent visiblement rendre compte des modifications du fonctionnement de certaines aires cérébrales suite à un apprentissage ; dans le même temps, ces activités peuvent également témoigner des communications transitoires qui peuvent s'établir entre les différentes aires cérébrales d'un même réseau et pouvant sous-tendre différents processus. En résumé, une activité oscillatoire peut donc à la fois signer la plasticité (changement du mode de fonctionnement) et la mise en réseau (l'oscillation est alors utilisée comme un support de dialogue ou de transfert d'informations entre les aires fonctionnellement impliquées dans les mêmes processus).

D'autre part notre travail montre de façon originale qu'un même stimulus odorant (l'acétate d'isoamyl présenté en distal le jour du test) peut être représenté dans le cerveau de

l'animal d'au moins trois manières différentes en fonction de la façon dont ce dernier l'a expérimenté : lorsqu'il l'a associé à un malaise gastrique, lorsqu'il l'a associé à la consommation de cette même odeur et lorsque cette odeur n'évoque pas pour lui de conséquence post-ingestives négatives. En résumé, un même stimulus sensoriel peut donc être représenté par différents systèmes cérébraux en fonction de l'histoire qui nous a conduits à construire sa représentation.

5. Pistes pour de futurs travaux

Suite à ces résultats et aux discussions que nos études ont amenées, certains questions restent encore à explorer à plus ou moins brève échéance.

Dans une perspective proche, il sera important de découvrir quelle est la cinétique temporelle fine des couplages fonctionnels que nous avons mis à jour. En effet, pour l'instant nous avons quantifié la synchronisation entre paire de structures de manière globale au cours des premières secondes de l'essai. Une analyse dynamique de l'évolution de ces synchronisations intra-paires dans les premières secondes de traitement du SC serait nécessaire pour comprendre la séquence des interactions qui s'établissent au sein des deux réseaux mis à jour. On pourrait ainsi imaginer que certains couplages entre structures se produisent avant, voire même conditionnent, la survenue d'autres couplages au cours d'un même essai. Cette étude permettrait peut être de dissocier les différentes opérations cognitives mises en jeu dans le comportement aversif (perception, reconnaissance, prise de décision….) comme cela a pu être fait dans d'autres études (Rodriguez *et al.*, 1999). Toujours dans l'optique de décrire finement les interactions existant au sein des différents réseaux, il apparait intéressant de savoir quel est le sens des couplages fonctionnels observés. En effet, notre analyse nous permet pour l'instant de dire si la coopération fonctionnelle entre deux structures a été amplifiée ou non avec l'apprentissage mais ne permet pas de déterminer la direction des flux d'informations entre deux régions cérébrales données. Ceci pourrait être étudié sur la base des activités oscillatoires par d'autres analyses permettant de définir un indice de causalité entre deux signaux considérés (*e.g.* Smirnov *et al.*, 2005).

Le réseau que nous avons étudié ici n'est sans doute pas exhaustif, il serait intéressant dans de futurs travaux de préciser quelle pourrait être l'implication fonctionnelle d'autres régions cérébrales comme l'hippocampe et le cortex entorhinal. Au vu des travaux de Ferry *et al.* (1999), il semble particulièrement intéressant d'envisager l'étude de la force du couplage

s'établissant entre le cortex entorhinal et l'amygdale basolatérale lors du conditionnement de l'AOC. On peut également, selon l'hypothèse qu'une implication moindre de l'hippocampe conduit à une facilitation de l'AOC (Bermudez-Rattoni *et al.*, 1987), imaginer d'étudier les séquences d'engagement/désengagement de cette structure au cours de l'AOC.

Dans la perspective de mieux comprendre l'importance des interactions fonctionnelles s'établissant par le biais de phénomènes de synchronisation oscillatoire, il serait également intéressant de coupler l'inactivation d'une structure donnée avec l'enregistrement des activités des PCL dans les autres régions. Ainsi, cela permettrait par exemple de voir comment l'activité oscillatoire du cortex piriforme peut être altérée par l'absence de l'amygdale basolatérale lors du rappel de l'apprentissage.

Notre approche pourrait également être utilisée dans le cadre d'un conditionnement alimentaire non plus aversif mais appétitif, où la consommation de l'odeur serait associée à des conséquences post-ingestives positives (comme un apport énergétique).

Dans un cadre qui dépasse les enjeux de ce travail, l'étude des réseaux neuronaux des aversions et des préférences alimentaires pourrait à terme aider à mieux comprendre le comportement alimentaire dans son ensemble et ainsi lutter contre les troubles qui lui sont associés.

Bibliographie

-A-

Aimé, P., Duchamp-Viret, P., Chaput, M.A., Savigner, A., Mahfouz, M. & Julliard, A.K. (2007) Fasting increases and satiation decreases olfactory detection for a neutral odor in rats. *Behav Brain Res*, **179**, 258-264.

Aleksandrov, V.G. & Fedorova, K.P. (2003) Structure of the insular region of the rat neocortex. *Neurosci Behav Physiol*, **33**, 199-202.

Auvray, M. & Spence, C. (2008) The multisensory perception of flavor. *Conscious Cogn*, **17**, 1016-1031.

-B-

Bahar, A., Samuel, A., Hazvi, S. & Dudai, Y. (2003) The amygdalar circuit that acquires taste aversion memory differs from the circuit that extinguishes it. *Eur. J. Neurosci.*, **17**, 1527-1530.

Batsell, W.R., Jr., Paschall, G.Y., Gleason, D.I. & Batson, J.D. (2001) Taste preconditioning augments odor-aversion learning. *Journal of experimental psychology*, **27**, 30-47.

Batsell, W.R. & Blankenship, A.G. (2002) Beyond Potentiation: synergistic conditionning in flavor-aversion learning. *Brain and Mind*, **3**, 383-408.

Batsell, W.R., Jr., Trost, C.A., Cochran, S.R., Blankenship, A.G. & Batson, J.D. (2003) Effects of postconditioning inflation on odor + taste compound conditioning. *Learn Behav*, **31**, 173-184.

Baylis, L.L., Rolls, E.T.& Baylis, G.C. (1995). Afferent connections of the orbitofrontal cortex taste area of the primate. *Neuroscience,* **64**, 801–812.

Bazhenov, M., Rulkov, N.F. & Timofeev, I. (2008) Effect of synaptic connectivity on long-range synchronization of fast cortical oscillations. *Journal of neurophysiology*, **100**, 1562-1575.

Berman, D.E. & Dudai, Y. (2001) Memory extinction, learning anew, and learning the new: dissociations in the molecular machinery of learning in cortex. *Science*, **291**, 2417-2419.

Berman, D.E., Hazvi, S., Stehberg, J., Bahar, A. & Dudai, Y. (2003) Conflicting Processes in the Extinction of Conditioned Taste Aversion: Behavioral and Molecular Aspects of Latency, Apparent Stagnation, and Spontaneous Recovery. *Learning and Memory*, **10**, 16-25.

Bermudez-Rattoni, F. (2004) Molecular mechanisms of Taste-recognition memory. *Nat. Rev. Neurosci.*, **5**, 209-217.

Bermudez-Rattoni, F., Coburn, K.L., Fernandez, J., Chavez, A.F. & Garcia, J. (1987) Potentiation of odor by taste and odor aversions in rats are regulated by cholinergic activity of dorsal hippocampus. *Pharmacol Biochem Behav*, **26**, 553-559.

Bermudez-Rattoni, F., Grijalva, C.V., Kiefer, S.W. & Garcia, J. (1986) Flavor-illness aversions: the role of the amygdala in the acquisition of taste-potentiated odor aversions. *Physiol. Behav.*, **38**, 503-508.

Bermudez-Rattoni, F., Rusiniak, K.W. & Garcia, J. (1983) Flavor-illness aversions: potentiation of odor by taste is disrupted by application of novocaine into amygdala. *Behav. Neural Biol.*, **37**, 31-75.

Bernstein, I.L. (1999) Taste aversion learning: a contemporary perspective. *Nutrition*, **15**, 229-234.

Best, P.J. & Orr, J., Jr. (1973) Effects of hippocampal lesions on passive avoidance and taste aversion conditioning. *Physiol Behav*, **10**, 193-196.

Bidet-Caulet, A., Fischer, C., Besle, J., Aguera, P.E., Giard, M.H. & Bertrand, O. (2007) Effects of selective attention on the electrophysiological representation of concurrent sounds in the human auditory cortex. *J Neurosci*, **27**, 9252-9261.

Bitterman, M.E. (1975) The Comparative Analysis of Learning. *Science*, **188**, 699-709.

Boeijinga, P.H. & Lopes da Silva, F.H. (1989) Modulations of EEG activity in the entorhinal cortex and forebrain olfactory areas during odour sampling. *Brain research*, **478**, 257-268.

Boix-Trelis, N., Vale-Martinez, A., Guillazo-Blanch, G. & Marti-Nicolovius, M. (2007) Muscarinic cholinergic receptor blockade in the rat prelimbic cortex impairs the social transmission of food preference. *Neurobiol Learn Mem*, **87**, 659-668.

Boulanger R.. (2007) Les secrets aromatiques du chocolat. *Découverte CIRAD*,**352**, 36-41.

Bouton, M.E., Jones, D.E., McPhillips, S.A. & Swartzentruber, D. (1986) Potentiation and overshadowing in odor-aversion learning: Role of method of odor presentation, the distal-proximal cue distinction, and the conditionability of odor. *Learn. Motiv.*, **17**, 115-138.

Brennan, P (2007) Odor Memory, *Encyclopedia of Neuroscience, 4th edition.*

Bressler, S.L. (1987) Relation of olfactory bulb and cortex. I. Spatial variation of bulbocortical interdependence. *Brain Res*, **409**, 285-293.

Bressler, S.L. & Kelso, J.A. (2001) Cortical coordination dynamics and cognition. *Trends Cogn Sci*, **5**, 26-36.

Broad, K.D., Hinton, M.R., Keverne, E.B. & Kendrick, K.M. (2002) Involvement of the medial prefrontal cortex in mediating behavioural responses to odour cues rather than olfactory recognition memory. *Neuroscience*, **114**, 715-729.

Braun, J.J., Lasiter, P.S., & Kiefer, S.W. (1982) The gustatoty neocortex of the rat. *Physiol Psychol,* **10**, 13-45.

Buck, L.B. (1996) Information coding in the vertebrate olfactory system. *Annu Rev Neurosci*, **19**, 517-544.

Bunsey, M. & Eichenbaum, H. (1995) Selective damage to the hippocampal region blocks long-term retention of a natural and nonspatial stimulus-stimulus association. *Hippocampus*, **5**, 546-556.

Burdach, K.J. & Doty, R.L. (1987) The effects of mouth movements, swallowing, and spitting on retronasal odor perception. *Physiol Behav*, **41**, 353-356.

Burdach, K.J., Kroeze, J.H. & Koster, E.P. (1984) Nasal, retronasal, and gustatory perception: an experimental comparison. *Percept Psychophys*, **36**, 205-208.

Bures, J. & Buresova, O. (1990) Reversible lesions allow reinterpretation of system level studies of brain mechanisms of behavior. *Concepts in Neurosci.*, **1**, 69-89.

Buzsáki, G. (2002) Theta oscillations in the hippocampus. *Neuron*, **33**, 325-340.

-C-

Cain, D.P. & Bindra, D. (1972) Responses of amygdala single units to odors in the rat. *Exp Neurol*, **35**, 98-110.

Calu, D.J., Roesch, M.R., Stalnaker, T.A. & Schoenbaum, G. (2007) Associative encoding in posterior piriform cortex during odor discrimination and reversal learning. *Cereb Cortex*, **17**, 1342-1349.

Cardello, A.V. (1996). The role of the human senses in food acceptance. In: Meiselman, H.L., MacFie, H.J.H. (Eds.), *Food Choice, Acceptance and Consumption.* Blackie Academic, London.

Carmichael, ST & Price, JL. (1995) Sensory and premotor connections of the orbital and medial prefrontal cortex of macaque monkeys. *J Comp Neurol.,* **363**, 642-664.

Caulliez, R., Meile, M.J. & Nicolaidis, S. (1996) A lateral hypothalamic D1 dopaminergic mechanism in conditioned taste aversion. *Brain Res*, **729**, 234-245.

Cenier, T., Amat, C., Litaudon, P., Garcia, S., Lafaye de Micheaux, P., Liquet, B., Roux, S. & Buonviso, N. (2008) Odor vapor pressure and quality modulate local field potential oscillatory patterns in the olfactory bulb of the anesthetized rat. *Eur J Neurosci*, **27**, 1432-1440.

Cenier, T., David, F., Litaudon, P., Garcia, S., Amat, C. & Buonviso N. (2009) Respiration-gated formation of gamma and beta neural assemblies in the mammalian olfactory bulb. *Eur J Neurosci*, **29**, 921-930.

Cerf-Ducastel, B. & Murphy, C. (2001) fMRI Activation in Response to Odorants Orally Delivered in Aqueous Solutions. *Chem. Senses*, **26**, 625-637.

Chabaud, P., Ravel, N., Wilson, D.A. & 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. & 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.

Chaillan, F.A., Roman, F.S. & Soumireu-Mourat, B. (1996) Modulation of synaptic plasticity in the hippocampus and piriform cortex by physiologically meaningful olfactory cues in an olfactory association task. *J Physiol Paris*, **90**, 343-347.

Chambers K.C. & Bernstein I.L. (2003) Conditioned taste aversion. In: Handbook of olfaction and gustation*, Second Ed.: R.L. Doty. Marcel Decker, Inc., N.Y.*

Chen, V. & Halpern, B.P. (2008) Retronasal but not oral-cavity-only identification of "purely olfactory" odorants. *Chem Senses*, **33**, 107-118.

Cinelli, A.R., Ferreyra-Moyano, H. & Barragan, E. (1987) Reciprocal Functional Connections of the Olfactory Bulbs and Other Olfactory Related Areas With the Prefrontal Cortex. *Brain Res. Bull.*, **19**, 651-661.

Cleland, T. & Linster, C. (2003) Central olfactory structures. *In: Handbook of olfaction and gustation (Doty RL, ed)*, 165-180 New York: Marcel Dekker Inc.

Coburn, K.L., Garcia, J., Kiefer, S.W. & Rusiniak, K.W. (1984) Taste potentiation of poisoned odor by temporal contiguity. *Behav Neurosci*, **98**, 813-819.

Coppola D.M., Coltrane J.A. & Arsov I. (1994) Retronasal or internasal olfaction can mediate odor-guided behaviors in newborn mice. *Physiol Behav,* **56**, 729-736.

Crick, F. & Koch, C. (2003) A framework for consciousness. *Nat. Neurosci.*, **6**, 119-126.

-D-

Dade, L.A., Zatorre, R.J. & Jones-Gotman, M. (2002) Olfactory learning: convergent findings from lesion and brain imaging studies in humans. *Brain*, **125**, 86-101.

Dalley, J.W., Cardinal, R.N. & Robbins, T.W. (2004) Prefrontal executive and cognitive functions in rodents: neural and neurochemical substrates. *Neurosci Biobehav Rev*, **28**, 771-784.

Damasio, A.R. & Damasio, H. (1994) Cortical systems for retrieval of concrete knowledge. In Largescale Neuronal Theories of the Brain, *Koch, C. & Davis, J.L., eds*, *MIT Press*, 61–74

Dardou, D., Datiche, F. & Cattarelli, M. (2006) Fos and Egr1 expression in the rat brain in response to olfactory cue after taste-potentiated odor aversion retrieval. *Learn. Mem.*, **13**, 150-160.

Dardou, D., Datiche, F. & Cattarelli, M. (2007) Does taste or odor activate the same brain networks after retrieval of taste potentiated odor aversion? *Neurobiol Learn Mem*, **88**, 186-197.

Dardou, D., Datiche, F. & Cattarelli, M. (2008) Memory is differently impaired during aging according to the learning tasks in the rat. *Behav Brain Res*, **194**, 193-200.

Dardou, D. (2007) L'aversion olfactive potentialisée par le goût au cours du vieillissement chez le rat : Etude comportementale et immunocytochimique. *Thèse de doctorat, Université de Bourgogne.*

Datiche, F. & Cattarelli, M. (1996) Reciprocal and topographic connections between the piriform and prefrontal cortices in the rat: a tracing study using the B subunit of the cholera toxin. *Brain Res Bull*, **41**, 391-398.

de Araujo, I.E., Rolls, E.T., Kringelbach, M.L., McGlone, F. & Phillips, N. (2003) Taste-olfactory convergence, and the representation of the pleasantness of flavour, in the human brain. *Eur. J. Neurosci.*, **18**, 2059-2068.

Deems, D.A., Doty, R.L., Settle, R.G., Moore-Gillon, V., Shaman, P., Mester, A.F., Kimmelman, C.P., Brightman, V.J. & Snow, J.B., Jr. (1991) Smell and taste disorders, a study of 750 patients from the University of Pennsylvania Smell and Taste Center. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*, **117**, 519-528.

Desgranges, B., Levy, F. & Ferreira, G. (2008) Anisomycin infusion in amygdala impairs consolidation of odor aversion memory. *Brain Res*., **1236**, 166-175.

Desgranges B, Sevelinges Y, Bonnefond M, Lévy F, Ravel N, Ferreira G (2009) Critical role of insular cortex in taste but not odor aversion memory. *Eur J Neurosci*, in press

Doty, R.L. (1975) Intranasal trigeminal detection of chemical vapors by humans. *Physiol Behav*, **14**, 855-859.

Doty, R.L., Brugger, W.E., Jurs, P.C., Orndorff, M.A., Snyder, P.J. & Lowry, L.D. (1978) Intranasal trigeminal stimulation from odorous volatiles: psychometric responses from anosmic and normal humans. *Physiol Behav*, **20**, 175-185.

Doty, R.L. (1986) Odor-guided behavior in mammals. *Experientia*, **42**, 257-271.

Doucette, W. & Restrepo, D. (2008) Profound context-dependent plasticity of mitral cell responses in olfactory bulb. *PLoS Biol*, **6**, e258.

Dudchenko, P.A., Wood, E.R. & Eichenbaum, H. (2000) Neurotoxic hippocampal lesions have no effect on odor span and little effect on odor recognition memory but produce significant impairments on spatial span, recognition, and alternation. *J Neurosci*, **20**, 2964-2977.

Durlach, P.J. & Rescorla, R.A. (1980) Potentiation rather than overshadowing in flavor-aversion learning: an analysis in terms of within-compound associations. *J. Exp. Psychol. Anim. Behav. Process.*, **6**, 175-187.

-E-

Eichenbaum, H. (2004) Hippocampus: cognitive processes and neural representations that underlie declarative memory. *Neuron*, **44**, 109-120.

Engel, A.K., Konig, P., Kreiter, A.K. & Singer, W. (1991) Interhemispheric synchronization of oscillatory neuronal responses in cat visual cortex. *Science*, **252**, 1177-1179.

Engel, A.K. & Singer, W. (2001) Temporal binding and the neural correlates of sensory awareness. *Trends Cogn. Sci.*, **5**, 16-25.

Ennis, M., Zimmer, L.A. & Shipley, M.T. (1996) Olfactory nerve stimulation activates rat mitral cells via NMDA and non-NMDA receptors in vitro. *Neuroreport*, **7**, 989-992.

Escobar, M.L., Alcocer, I. & Bermudez-Rattoni, F. (2002) In vivo effects of intracortical administration of NMDA and metabotropic glutamate receptors antagonists on neocortical long-term potentiation and conditioned taste aversion. *Behav Brain Res*, **129**, 101-106.

Escobar, M.L., Chao, V. & Bermudez-Rattoni, F. (1998a) In vivo long-term potentiation in the insular cortex: NMDA receptor dependence. *Brain Res*, **779**, 314-319.

Escobar, M.L., Alcocer, I. & Chao, V. (1998b) The NMDA receptor antagonist CPP impairs conditioned taste aversion and insular cortex long-term potentiation in vivo. *Brain Res*, **812**, 246-251.

Escobar, M.L. & Bermudez-Rattoni, F. (2000) Long-term potentiation in the insular cortex enhances conditioned taste aversion retention. *Brain Res*, **852**, 208-212.

-F-

Fell, J., Klaver, P., Lehnertz, K., Grunwald, T., Schaller, C., Elger, C.E. & Fernandez, G. (2001) Human memory formation is accompanied by rhinal-hippocampal coupling and decoupling. *Nat. Neurosci.*, **4**, 1259-1264.

Fenu, S., Bassareo, V. & Di Chiara, G. (2001) A role for dopamine D1 receptors of the nucleus accumbens shell in conditioned taste aversion learning. *J Neurosci*, **21**, 6897-6904.

Ferreira, G. (2004) Apprentissages alimentaires : mécanismes neurobiologiques impliqués dans le développement de l'aversion gustative chez le rat. *Science des Aliments*, **24**, 53-69

Ferreira, G., Ferry, B., Meurisse, M. & Lévy, F. (2006) Forebrain Structures Specifically Activated by Conditioned Taste Aversion. *Behav. Neurosci.*, **120**, 952-962.

Ferreira, G., Gutierrez, R., De la Cruz, V. & Bermudez-Rattoni, F. (2002) Differential involvement of cortical muscarinic and NMDA receptors in short- and long-term taste aversion memory. *Eur. J. Neurosci.*, **16**, 1139-1145.

Ferreira, G., Miranda, M.I., Cruz, V., Rodriguez-Ortiz, C.J. & Bermudez-Rattoni, F. (2005) Basolateral amygdala glutamatergic activation enhances taste aversion through NMDA receptor activation in the insular cortex. *Eur. J. Neurosci.*, **22**, 2596-2604.

Ferry, B. (1997). Implication de l'amygdale basolatérale et du cortex entorhinal dans l'aversion olfactive conditionnée chez le rat. *Thèse de doctorat, ULP Strasbourg.*

Ferry, B. & Di Scala, G. (1997) Bicuculline Administration into Basolateral Amygdala Facilitates Trace Conditioning of Odor Aversion in the Rat. *Neurobiol. Learn. Mem.*, **67**, 80-83.

Ferry, B., Oberling, P., Jarrard, L.E. & Di Scala, G. (1996) Facilitation of conditionned odor aversion learning by entorhinal cortex lesions in the rat. *Behav. Neurosci.*, **110**, 443-450.

Ferry, B., Sandner, G. & Di Scala, G. (1995) Neuroanatomical and Functional Specificity of the Basolateral Amygdaloid Nucleus in Taste-Potentiated Odor Aversion. *Neurobiol. Learn. Mem.*, **64**, 169-180.

Ferry, B., Wirth, S. & Di Scala, G. (1999) Functionnal interaction between entorhinal cortex and basolateral amygdala during trace conditionning odor aversion in the rat. *Behav. Neurosci.*, **113**, 118-125.

Fletcher, M.L. & Wilson, D.A. (2002) Experience modifies olfactory acuity: acetylcholine-dependent learning decreases behavioral generalization between similar odorants. *J Neurosci*, **22**, RC201.

Fontanini, A. & Katz, D.B. (2005) 7 to 12 Hz activity in rat gustatory cortex reflects disengagement from a fluid self-administration task. *Journal of neurophysiology*, **93**, 2832-2840.

Forbes, J.M. (1986) The volontary food intake of farm animals. *Butterworths Ed.*, London.

Fortis-Santiago, Y., Rodwin, B. & Katz, D.B. (2008) Olfactory learning requires the taste system. Program n°162.10. 2008 Abstract Viewer/Itinerary Planner. Society for Neuroscience, Washington, DC. Online.

Frank, R. A. & Byram J. (1988) Taste–smell interactions are tastant and odorant dependent *Chem Senses*, **13**, 445 - 455.

Frasnelli, J., Charbonneau, G., Collignon, O. & Lepore, F. (2008) Odor Localization and Sniffing. *Chem Senses*.

Frasnelli, J., Heilmann, S. & Hummel, T. (2004) Responsiveness of human nasal mucosa to trigeminal stimuli depends on the site of stimulation. *Neurosci Lett*, **362**, 65-69.

Frasnelli, J., van Ruth, S., Kriukova, I. & Hummel, T. (2005) Intranasal concentrations of orally administered flavors. *Chem Senses*, **30**, 575-582.

Freeman, W.J. (1978) Spatial properties of an EEG event in the olfactory bulb and cortex. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.*, **44**, 586-605.

Freeman, W.J. & Schneider, W. (1982) Changes in spatial patterns of rabbit olfactory EEG with conditioning to odors. *Psychophysiology*, **19**, 44-56.

Fries, P., Nikolic, D. & Singer, W. (2007) The gamma cycle. *Trends Neurosci*, **30**, 309-316.

Fries, P., Roelfsema, P.R., Engel, A.K., Konig, P. & Singer, W. (1997) Synchronization of oscillatory responses in visual cortex correlates with perception in interocular rivalry. *P.N.A.S.*, **94**, 12699-12704.

-G-

Galef, B.G., Jr., Mason, J.R., Preti, G. & Bean, N.J. (1988) Carbon disulfide: a semiochemical mediating socially-induced diet choice in rats. *Physiol Behav*, **42**, 119-124.

Gallo, M., Roldan, G. & Bures, J. (1992) Differential involvement of gustatory insular cortex and amygdala in the acquisition and retrieval of conditioned taste aversion in rats. *Behav Brain Res*, **52**, 91-97.

Garcia, J. & Ervin, F.R. (1968) Appetites, aversions, and addictions: a model for visceral memory. *Recent Adv Biol Psychiatry*, **10**, 284-293.

Garcia, J. & Holder, M.D. (1985) Time, space and value. *Hum Neurobiol*, **4**, 81-89.

Garcia, J. & Koelling, R. (1966) Learning with prolonged delay of reinforcement. *Psychon. Sci.*, **5**, 121-122.

Garcia, J., McGowan, B.K., Ervin, F.R. & Koelling, R.A. (1968) Cues: their relative effectiveness as a function of the reinforcer. *Science*, **160**, 794-795.

Garcia, J., Hankins, W.G. & Rusiniak, K.W. (1976) Letter: Flavor aversion studies. *Science*, **192**, 265-267.

Garcia, J., Lasiter, P.S., Bermudez-Rattoni, F. & Deems, D.A. (1985) A general theory of aversion learning, in *N.S. Bravemen and P. Bronstein (eds), Experimental Assessments*

and Clinical Applications of Conditioned Food Aversions, Annals of the New York Academy of Sciences, **443** , 8–21.
Gault,,F.P. & Leaton R.N. (1963) Electrical activity of the olfactory system. *Electroencephalogr Clin Neurophysio*l, **15**, 299-304.

Gautam, S. & Verhagen, J.V. (2008) Rat as a model for the study of multimodal integration of flavor. Program n°852.3. 2008 Abstract Viewer/Itinerary Planner. Society for Neuroscience, Washington, DC. Online.
Gelperin, A. (1975) Rapid food-aversion learning by a terrestrial mollusk. *Science,* **189**, 567-570.
Gerfen, C.R. & Clavier, R.M. (1979) Neural inputs to the prefrontal agranular insular cortex in the rat: horseradish peroxidase study. *Brain Res Bull*, **4**, 347-353.
Gerrard, J.L., Burke, S.N., McNaughton, B.L. & Barnes, C.A. (2008) Sequence reactivation in the hippocampus is impaired in aged rats. *J Neurosci*, **28**, 7883-7890.
Gervais R, Mouly AM, Elaagouby A, Levy F (1990) Olfactory bulb plasticity. In:Chemosensory information processing (Schild D, ed). *Berlin Heidelberg: Springer-Verlag.*
Goff, S.A. & Klee, H.J. (2006) Plant volatile compounds: sensory cues for health and nutritional value? *Science*, **311**, 815-819.
Goldman-Rakic, P.S., Chafee, M. & Friedman, H. (1992) Allocation of function in distributed circuits. In Brain Mechanisms of Perception and Memory: From Neuron to Behavior, *Ono, T. et al*., eds, *Oxford University Press*, 445–456.
Gottfried, J.A., Deichmann, R., Winston, J.S. & Dolan, R.J. (2002) Functional heterogeneity in human olfactory cortex: an event-related functional magnetic resonance imaging study. *J Neurosci*, **22**, 10819-10828.
Gottfried, J.A. (2007) What can an orbitofrontal cortex-endowed animal do with smells? *Ann N Y Acad Sci*, **1121**, 102-120.
Gottfried, J.A., Smith, A.P., Rugg, M.D. & Dolan R.J. (2004) Remembrance of odors past: human olfactory cortex in cross-modal recognition memory. *Neuron,* **42**, 687-695.
Gray, C.M. & Skinner, J.E. (1988a) Centrifugal regulation of neuronal activity in the olfactory bulb of the waking rabbit as revealed by reversible cryogenic blockade. *Exp Brain Res,* **69**, 378-386.
Gray, C.M. & Skinner, J.E. (1988b) Field potential response changes in the rabbit olfactory bulb accompany behavioral habituation during the repeated presentation of unreinforced odors. *Exp Brain Res.*, **73**, 189-197.
Grill, H.J. & Norgren, R. (1978) The taste reactivity test. I. Mimetic responses to gustatory stimuli in neurologically normal rats. *Brain research*, **143**, 263-279.
Grossman, S.E., Fontanini, A., Wieskopf, J.S. & Katz, D.B. (2008) Learning-Related Plasticity of Temporal Coding in Simultaneously Recorded Amygdala-Cortical Ensembles. *J. Neurosci.*, **28**, 2864-2873.
Gruber, T., Tsivilis, D., Montaldi, D. & Muller, M.M. (2004) Induced gamma band responses: an early marker of memory encoding and retrieval. *Neuroreport*, **15**, 1837-1841.
Guthrie KM, Gall CM (1995) Functional mapping of odor-activated neurons in the olfactory bulb. *Chem Senses*, **20**, 271-282.

-H-

Haberly, L.B. (1973) Summed potentials evoked in opossum prepyriform cortex. *J Neurophysiol*, **36**, 775-788.

Haberly, L.B. (1998) Olfactory cortex. *In: Shepherd, G.M., Editor. The synaptic organization of the brain, Oxford University Press, Oxford* pp. 377-416.
Haberly, L.B. (2001) Parallel-distributed processing in olfactory cortex: new insights from morphological and physiological analysis of neuronal circuitry. *Chem Senses*, **26**, 551-576.
Haberly, L.B. & Bower, J.M. (1989) Olfactory cortex: model circuit for study of associative memory? *Trends Neurosci*, **12**, 258-264.
Haberly, L.B. & Price, J.L. (1978) Association and commissural fiber systems of the olfactory cortex of the rat. *J Comp Neurol*, **178**, 711-740.
Hajieva, P., Kuhlmann, C., Luhmann, H.J. & Behl, C. (2008) Impaired calcium homeostasis in aged hippocampal neurons. *Neurosci Lett*.
Hanamori, T., Kunitake, T., Kato, K. & Kannan, H. (1998) Responses of neurons in the insular cortex to gustatory, visceral, and nociceptive stimuli in rats. *J Neurophysiol*, **79**, 2535-2545.
Hankins, W.G., Garcia, J. & Rusiniak, K.W. (1973) Dissociation of odors and taste in baitshyness. *Behav. Biol.*, **8**, 407-419.
Hatfield, T., Graham, P.W. & Gallagher, M. (1992) Taste-potentiated odor aversion learning: role of the amygdaloid basolateral complex and central nucleus. *Behav Neurosci*, **106**, 286-293.
Heale, V.R., Vanderwolf, C.H. & Kavaliers, M. (1994) Components of weasel and fox odors elicit fast wave bursts in the dentate gyrus of rats. *Behavioural brain research*, **63**, 159-165.
Hebb, D.O. (1949) The Organization of Behavior: A Neurophysiological theory, *Wiley: New York.*
Hebel, R. & Stromberg, M.W. (1976) Anatomy of the Laboratory Rat. *The Williams and Wilkins Company, Baltimore, U.S.A.*
Heidbreder, C.A. & Groenewegen, H.J. (2003) The medial prefrontal cortex in the rat: evidence for a dorso-ventral distinction based upon functional and anatomical characteristics. *Neurosci Biobehav Rev*, **27**, 555-579.
Heilmann, S. & Hummel, T. (2004) A new method for comparing orthonasal and retronasal olfaction. *Behav. Neurosci.*, **118**, 412-419.
Heilmann, S., Strehle, G., Rosenheim, K., Damm, M. & Hummel, T. (2002) Clinical assessment of retronasal olfactory function. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*, **128**, 414-418.
Hernádi, I., Karádi, Z., Vígh, J., Petykó, Z., Egyed, R., Berta, B. & Lénárd, L. (2000) Alterations of conditioned taste aversion after microiontophoretically applied neurotoxins in the medial prefrontal cortex of the rat. *Brain Res Bull*, **53**, 751-758.
Hildebrand, J.G. & Shepherd, G.M. (1997) Mechanisms of olfactory discrimination: converging evidence for common principles across phyla. *Annu Rev Neurosci*, **20**, 595-631.
Holder, M.D. & Garcia, J. (1987) Role of temporal order and odor intensity in taste-potentiated odor aversions. *Behav Neurosci*, **101**, 158-163.
Hollowood, T.A., Linforth, R.S. & Taylor, A.J. (2002) The effect of viscosity on the perception of flavour. *Chem Senses*, **27**, 583-591.
Hölscher, C., Anwyl, R. & Rowan, M.J. (1997) Stimulation on the positive phase of hippocampal theta rhythm induces long-term potentiation that can be depotentiated by stimulation on the negative phase in area CA1 in vivo. *J Neurosci*, **17**, 6470-6477.
Hoover, W.B. & Vertes, R.P. (2007) Anatomical analysis of afferent projections to the medial prefrontal cortex in the rat. *Brain Struct Funct*, **212**, 149-179.
Hummel, T. (2008) Retronasal perception of odors. *Chem Biodivers*, **5**, 853-861.
Hummel, T., Heilmann, S., Landis, B., Reden, J., Frasnelli, J., Small, D.M. & Gerber, J. (2006) Perceptual differences between chemical stimuli presented through the ortho- or retronasal route. *Flavour Fragr. J.*, **21**, 42-47.

Hummel, T. & Heilmann, S. (2008) Olfactory event-related potentials in response to ortho- and rétronasal stimulation with odors related or unrelated to foods. *International Dairy Journal,* **18**, 874-878.

-I-

Illig, K.R. (2005) Projections from orbitofrontal cortex to anterior piriform cortex in the rat suggest a role in olfactory information processing. *J. Comp. Neurol.*, **488**, 224-231.

Insausti, R., Herrero, M.T. & Witter, M.P. (1997) Entorhinal cortex of the rat: cytoarchitectonic subdivisions and the origin and distribution of cortical efferents. *Hippocampus*, **7**, 146-183.

Inui, T., Shimura, T. & Yamamoto, T. (2006) Effects of Brain Lesions on Taste-Potentiated Odor Aversion in Rats. *Behav. Neurosci.*, **120**, 590-599.

-J-

Janowitz, H. & Grossman, M. (1949) Gusto-olfacto thresholds in relation to appetite and hunger sensations. *J Appl Physiol*, **2**, 217-222.

Jefferys, J.G., Traub, R.D. & Whittington, M.A. (1996) Neuronal networks for induced '40 Hz' rhythms. *Trends Neurosci*, **19**, 202-208.

Jensen, O., Kaiser, J. & Lachaux, J.P. (2007) Human gamma-frequency oscillations associated with attention and memory, *Trends Neurosci.* **30**, 317-324.

Jourdan F, Duveau A, Astic L, Holley A (1980) Spatial distribution of [14C]2-deoxyglucose uptake in the olfactory bulbs of rats stimulated with two different odours. *Brain Res,* **188**,139-154.

Johnson BA, Woo CC, Hingco EE, Pham KL, Leon M (1999) Multidimensional chemotopic responses to n-aliphatic acid odorants in the rat olfactory bulb. *J Comp Neurol*, **409**,529-548.

Johnson, D.M., Illig, K.R., Behan, M. & Haberly, L.B. (2000) New features of connectivity in piriform cortex visualized by intracellular injection of pyramidal cells suggest that "primary" olfactory cortex functions like "association" cortex in other sensory systems. *J Neurosci*, **20**, 6974-6982.

Johnson BA, Leon M (2000) Modular representations of odorants in the glomerular layer of the rat olfactory bulb and the effects of stimulus concentration. *J Comp Neurol*, **422**,496-509.

Jung, J., Hudry, J., Ryvlin, P., Royet, J.P., Bertrand, O. & Lachaux, J.P. (2006) Functional significance of olfactory-induced oscillations in the human amygdala. *Cereb Cortex*, **16**, 1-8.

-K-

Katzner, S., Nauhaus, I., Benucci, A., Bonin, V., Ringach, D.L. & Carandini, M. (2009) Local

origin of field potentials in visual cortex. *Neuron*, **61**, 35-41.
Kay, L.M. (2003) Two species of gamma oscillations in the olfactory bulb: dependence on behavioral state and synaptic interactions. *Journal of integrative neuroscience*, **2**, 31-44.
Kay, L.M. (2005) Theta oscillations and sensorimotor performance. *P.N.A.S.*, **102**, 3863-3868.
Kiefer, S., Rusiniak, K. & Garcia, J. (1982) Flavor-illness aversions: gustatory neocortex ablations disrupt taste but not taste-potentiated odor cues. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, **96**, 540-548.
Kline, J.P., Schwartz, G.E., Dikman, Z.V. & Bell, I.R. (2000) Electroencephalographic registration of low concentrations of isoamyl acetate. *Consciousness and cognition*, **9**, 50-65.
Krettek, J.E. & Price, J.L. (1977) Projections from the amygdaloid complex and adjacent olfactory structures to the entorhinal cortex and to the subiculum in the rat and cat. *J Comp Neurol*, **172**, 723-752.
Krushel, L.A. & Van Der Kooy, D. (1988) Visceral Cortex : Integration of the Mucosal Senses With Limbic Information in the Rat Agranular Cortex. *J. Comp. Neurol.*, **270**, 39-54.
Kucharski, D. & Spear, N.E. (1985) Potentiation and overshadowing in preweanling rats. *J. Exp. Psychol. Anim. Behav. Process.*, **11**, 15-34.

-L-

Lachaux, J.P., Rodriguez, E., Martinerie, J. & Varela, F.J. (1999) Measuring phase synchrony in brain signals. *Human brain mapping*, **8**, 194-208.
Lakatos, P., Shah, A.S., Knuth, K.H., Ulbert, I., Karmos, G. & Schroeder, C.E. (2005) An oscillatory hierarchy controlling neuronal excitability and stimulus processing in the auditory cortex. *J Neurophysiol*, **94**, 1904-1911.
Laurent, G., Wehr, M. & Davidowitz, H. (1996) Temporal representations of odors in an olfactory network. *J. Neurosci.*, **16**, 3837-3847.
Lamprecht, R., Hazvi, S. & Dudai, Y. (1997) cAMP response element-binding protein in the amygdala is required for long- but not short-term conditioned taste aversion memory. *J Neurosci*, **17**, 8443-8450.
Lasiter, P.S., Deems, D.A. & Garcia, J. (1985) Involvement of the anterior insular gustatory neocortex in taste-potentiated odor aversion learning. *Physiol Behav*, **34**, 71-77.
Laska, M., Distel, H. & Hudson, R. (1997) Trigeminal perception of odorant quality in congenitally anosmic subjects. *Chem Senses*, **22**, 447-456.
Le Magnen, J. (1959) The role of olfacto-gustatory stimuli in the regulation of the alimentary behavior of the mammal. *J Psychol Norm Pathol (Paris)*, **56**, 137-160.
LeDoux, J.E. (2000) Emotion circuits in the brain. *Annu Rev Neurosci*, **23**, 155-184.
Levy, F., Gervais, R., Kindermann, U., Orgeur, P. & Piketty, V. (1990) Importance of beta-noradrenergic receptors in the olfactory bulb of sheep for recognition of lambs. *Behav Neurosci*, **104**, 464-469.
Li, W., Howard, J.D., Parrish, T.B. & Gottfried, J.A. (2008) Aversive learning enhances perceptual and cortical discrimination of indiscriminable odor cues. *Science*, **319**, 1842-1845.
Linster, C. & Gervais, R. (1996) Investigation of the role of interneurons and their modulation by centrifugal fibers in a neural model of the olfactory bulb. *Journal of computational neuroscience*, **3**, 225-246.
Litaudon, P., Datiche, F. & Cattarelli, M. (1997) Optical recording of the rat piriform cortex

activity. *Prog Neurobiol*, **52**, 485-510.
Logothetis, N.K. (2003) The underpinnings of the BOLD functional magnetic resonance imaging signal. *J Neurosci*, **23**, 3963-3971.
Lopes da Silva, F.H., Witter, M.P., Boeijinga, P.H. & Lohman A.H. (1990) Anatomic organization and physiology of the limbic cortex. *Physiol Rev.*, **70**, 453-511.
Lubow, R.E. & Moore, A.U. (1959) Latent inhibition: the effect of nonreinforced pre-exposure to the conditional stimulus. *J Comp Physiol Psychol*, **52**, 415-419.
Luskin, M.B. & 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.

-M-

Mackintosh, N. J. (1983). Conditioning and associative learning. NewYork: Oxford University Press.
Macrides, F., Eichenbaum, H.B. & Forbes, W.B. (1982) Temporal relationship between sniffing and the limbic theta rhythm during odor discrimination reversal learning. *J Neurosci*, **2**, 1705-1717.
Mainen, Z.F. (2006) Behavioral analysis of olfactory coding and computation in rodents *Curr Opin Neurobiol.*, **16**,429-434.
Mainy, N., Kahane, P., Minotti, L., Hoffmann, D., Bertrand, O. & Lachaux, J.P. (2007) Neural correlates of consolidation in working memory. *Human brain mapping*, **28**, 183-193.
Martin, C., Beshel, J. & Kay, L.M. (2007) An olfacto-hippocampal network is dynamically involved in odor-discrimination learning. *J Neurophysiol*, **98**, 2196-2205.
Martin, C., Gervais, R., Hugues, E., Messaoudi, B. & Ravel, N. (2004a) Learning Modulation of Odor-Induced Oscillatory Responses in the Rat Olfactory Bulb: A Correlate of Odor Recognition? *J. Neurosci.*, **24**, 389-397.
Martin, C., Gervais, R., Chabaud, P., Messaoudi, B. & Ravel, N. (2004b) Learning-induced modulation of oscillatory activities in the mammalian olfactory system: The role of the centrifugal fibres. *J. Physiol. Paris*, **98**, 467-478.
Martin, C., Gervais, R., Messaoudi, B. & Ravel, N. (2006) Learning-induced oscillatory activities correlated to odour recognition: a network activity. *Eur J Neurosci.*, **23**, 1801-1810.
McCracken, C.B. & Grace, A.A. (2007) High-frequency deep brain stimulation of the nucleus accumbens region suppresses neuronal activity and selectively modulates afferent drive in rat orbitofrontal cortex in vivo. *J Neurosci*, **27**, 12601-12610.
Mesulam, M. (1994) Neurocognitive networks and selectively distributed processing. *Rev Neurol (Paris)*, **150**, 564-569.
Mickley, G.A., Kenmuir, C.L., Yocom, A.M., Wellman, J.A. & Biada, J.M. (2005) A role for prefrontal cortex in the extinction of a conditioned taste aversion. *Brain Res*, **1051**, 176-182.
Miller, J.S., Nonneman, A.J., Kelly, K.S., Neisewander, J.L. & Isaac, W.L. (1986) Disruption of neophobia, conditioned odor aversion, and conditioned taste aversion in rats with hippocampal lesions. *Behav Neural Biol*, **45**, 240-253.
Miranda, M.A., Ferry, B. & Ferreira, G. (2007) Basolateral amygdala noradrenergic activity is involved in the acquisition of conditioned odor aversion in the rat. *Neurobiol Learn Mem*, **88**, 260-263.

Miranda, M.I., Ferreira, G., Ramirez-Lugo, L. & Bermudez-Rattoni, F. (2002) Glutamatergic activity in the amygdala signals visceral input during taste memory formation. *P.N.A.S.*, **99**, 11417-11422.

Miranda, M.I., LaLumiere, R.T., Buen, T.V., Bermudez-Rattoni, F. & McGaugh, J.L. (2003) Blockade of noradrenergic receptors in the basolateral amygdala impairs taste memory. *Eur. J. Neurosci.*, **18**, 2605-2610.

Miranda, M.I., Ramirez-Lugo, L. & Bermudez-Rattoni, F. (2000) Cortical cholinergic activity is related to the novelty of the stimulus. *Brain Res*, **882**, 230-235.

Mombaerts, P. (1999) Seven-transmembrane proteins as odorant and chemosensory receptors. *Science*, **286**, 707-711.

Mombaerts, P. (2004) Odorant receptor gene choice in olfactory sensory neurons: the one receptor-one neuron hypothesis revisited. *Curr Opin Neurobiol*, **14**, 31-36.

Mori, K. (1987) Membrane and synaptic properties of identified neurons in the olfactory bulb. *Prog Neurobiol*, **29**, 275-320.

Mori, K., Nagao, H. & Yoshihara, Y. (1999) The olfactory bulb: coding and processing of odor molecule information. *Science*, **286**, 711-715.

Motokizawa, F. & Ino, Y. (1983) A non-thalamic olfactory pathway to the orbital gyrus in the cat. *Brain Res Bull*, **10**, 83-88.

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

Mouly, A.M. & Gervais, R. (2002) Polysynaptic potentiation at different levels of rat olfactory pathways following learning. *Learn Mem*, **9**, 66-75.

Mouly, A.M., Kindermann, U., Gervais, R. & Holley, A. (1993) Involvement of the olfactory bulb in consolidation processes associated with long-term memory in rats. *Behav Neurosci*, **107**, 451-457.

Mozell, M.M. (1964) Evidence for Sorption as a Mechanism of the Olfactory Analysis of Vapours. *Nature*, **203**, 1181-1182.

Mozell, M.M. (1966) The Spatiotemporal Analysis of Odorants at the Level of the Olfactory Receptor Sheet. *J. Gen. Physiol.*, **50**, 25-41.

Mozell, M.M. (1970) Evidence for a Chromatographic Model of Olfaction. *J. Gen. Physiol.*, **56**, 46-63.

Murphy, C. & Cain, W.S. (1980) Taste and olfaction: independence vs interaction. *Physiol Behav*, **24**, 601-605.

Murphy, C., Cain, W.S. & Bartoshuk, L.M. (1977) Mutual action of taste and olfaction. *Sens. Processes*, **1**, 204-211.

-N-

Nachman, M. (1970) Learned taste and temperature aversions due to lithium chloride sickness after temporal delays. *J Comp Physiol Psychol*, **73**, 22-30.

Nowlis G.H., Frank M.E. & Pfaffmann C. (1980) Specificity of acquired aversions to taste qualities in hamsters and rats. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, **94**, 932-942.

Nusser, Z., Kay, L.M., Laurent, G., Homanics, G.E. & Mody, I. (2001) Disruption of GABA(A) receptors on GABAergic interneurons leads to increased oscillatory power in the olfactory bulb network. *J Neurophysiol*, **86**, 2823-2833.

-O-

Ogawa, H., Ito, S., Murayama, N. & Hasegawa, K. (1990) Taste area in granular and dysgranular insular cortices in the rat identified by stimulation of the entire oral cavity. *Neurosci Res*, **9**, 196-201.

Ongür, D. & Price, J.L. (2000) The organization of networks within the orbital and medial prefrontal cortex of rats, monkeys and humans. *Cereb Cortex*, **10**, 206-219.

Osipova, D., Takashima, A., Oostenveld, R., Fernandez, G., Maris, E. & Jensen, O. (2006) Theta and gamma oscillations predict encoding and retrieval of declarative memory. *J Neurosci*, **26**, 7523-7531.

Otto T. & Eichenbaum H. (1992a) Neuronal activity in the hippocampus during delayed non-match to sample performance in rats: evidence for hippocampal processing in recognition memory. *Hippocampus*, **2**, 323-34.

Otto T. & Eichenbaum H. (1992b) Complementary roles of the orbital prefrontal cortex and the perirhinal-entorhinal cortices in an odor-guided delayed-nonmatching-to-sample task. *Behav Neurosci*., **106**,762-75.

-P -

Pager, J., Giachetti, I., Holley, A. & Le Magnen, J. (1972) A selective control of olfactory bulb electrical activity in relation to food deprivation and satiety in rats. *Physiol Behav*, **9**, 573-579.

Pager, J. & Royet, J.P. (1976) Some effects of conditioned aversion on food intake and olfactory bulb electrical responses in the rat. *J Comp Physiol Psychol*, **90**, 67-77.

Palmerino, C.C., Rusiniak, K.W. & Garcia, J. (1980) Flavor-illness aversions : the pecular roles of odor and taste in memory for poison. *Science*, **208**, 753-755.

Parent, M.B. & Baxter, M.G. (2004) Septohippocampal acetylcholine: involved in but not necessary for learning and memory? *Learn Mem*, **11**, 9-20.

Paré, D., Collins, D.R. & Pelletier, J.G. (2002) Amygdala oscillations and the consolidation of emotional memories. *Trends in cognitive sciences*, **6**, 306-314.

Parker, L.A., Rana, S.A. & Limebeer, C.L. (2008) Conditioned nausea in rats: assessment by conditioned disgust reactions, rather than conditioned taste avoidance. *Canadian journal of experimental psychology*, **62**, 198-209.

Pavlov, I.P. (1927) Conditioned Reflexes: An Investigation of the Physiological Activity of the Cerebral Cortex. *Oxford University Press, Oxford*.

Pelchat, M.L., Grill, H.J., Rozin, P. & Jacobs, J. (1983) Quality of acquired responses to tastes by Rattus norvegicus depends on type of associated discomfort. *J Comp Psychol*, **97**, 140-153.

Pierce, J. & Halpern, B.P. (1996) Orthonasal and retronasal odorant identification based upon vapor phase input from common substances. *Chem. Senses*, **21**, 529-543.

Pimentel, D.O. & Margrie, T.W. (2008) Glutamatergic transmission and plasticity between olfactory bulb mitral cells. *J Physiol*, **586**, 2107-2119.

Pitkänen, A., Pikkarainen, M., Nurminen, N. & Ylinen, A. (2000) Reciprocal connections between the amygdala and the hippocampal formation, perirhinal cortex, and postrhinal cortex in rat. A review. *Ann N Y Acad Sci*, **911**, 369-391.

Pitkänen, A., Savander, V. & LeDoux, J.E. (1997) Organization of intra-amygdaloid circuitries in the rat: an emerging framework for understanding functions of the amygdala. *Trends Neurosci*, **20**, 517-523.

Prescott, J. (1999) Flavour as a psychological construct: implications for perceiving and measuring the sensory qualities of foods. *Food Quality and Preference*, **10**, 349-356.

Prescott, J., Johnstone, V. & Francis, J. (2004) Odor-taste interactions: effects of attentional strategies during exposure. *Chem Senses*, **29**, 331-340.

-R-

Ramirez, I. (1992) Malaise can condition avoidance of high-viscosity fluids. *Physiol Behav.* **52**, 929-934.

Ravel, N., Chabaud, P., Martin, C., Gaveau, V., Hugues, E., Tallon-Baudry, C., Bertrand, O. & Gervais, R. (2003) Olfactory learning modifies the expression of odour-induced oscillatory responses in the gamma (60-90 Hz) and beta (15-40 Hz) bands in the rat olfactory bulb. *Eur. J. Neurosci.*, **17**, 350-358.

Ravel, N., Elaagouby, A. & Gervais, R. (1994) Scopolamine injection into the olfactory bulb impairs short-term olfactory memory in rats. *Behav Neurosci*, **108**, 317-324.

Ravel N., Gervais R., Chapuis J. & Martin, C. (2007) Oscillations and Plasticity in the olfactory system, *Encyclopedia of Neuroscience, 4th edition.*

Ravel N. (2008) Circuits de la mémoire olfactive et activités oscillatoires de réseau : Une nouvelle imagerie fonctionnelle ? *Habilitation à diriger les recherches, Université Claude Bernard Lyon 1.*

Reilly, S. (1999) The parabrachial nucleus and conditioned taste aversion. *Brain Res Bull*, **48**, 239-254.

Reilly, S. & Bornovalova, M.A. (2005) Conditioned taste aversion and amygdala lesions in the rat: A critical review. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, **29**, 1067-1088.

Reilly, S., Harley, C. & Revusky, S. (1993) Ibotenate lesions of the hippocampus enhance latent inhibition in conditioned taste aversion and increase resistance to extinction in conditioned taste preference. *Behav Neurosci*, **107**, 996-1004.

Ressler, K.J., Sullivan, S.L. & Buck, L.B. (1993) A zonal organization of odorant receptor gene expression in the olfactory epithelium. *Cell*, **73**, 597-609.

Rodriguez, E., George, N., Lachaux, J.P., Martinerie, J., Renault, B. & Varela, F.J. (1999) Perception's shadow: long-distance synchronization of human brain activity. *Nature*, **397**, 430-433.

Roesch, M.R., Stalnaker, T.A. & Schoenbaum, G. (2007) Associative encoding in anterior piriform cortex versus orbitofrontal cortex during odor discrimination and reversal learning. *Cereb Cortex*, **17**, 643-652.

Rolls, E.T. (2005) Taste, olfactory, and food texture processing in the brain, and the control of food intake. *Physiol Behav*, **85**, 45-56.

Rolls, E.T. & Baylis, L.L. (1994) Gustatory, olfactory, and visual convergence within the primate orbitofrontal cortex. *J Neurosci*, **14**, 5437-5452.

Roman, F.S., Truchet, B., Chaillan, F.A., Marchetti, E. & Soumireu-Mourat, B. (2004) Olfactory associative discrimination: a model for studying modifications of synaptic efficacy in neuronal networks supporting long-term memory. *Rev Neurosci*, **15**, 1-17.

Roman, C., Nino, N., Aristide, S. & Reilly S. (2006) Effects of lesions of the bed nucleus of the stria terminalis, lateral hypothalamus, or insular cortex on conditioned taste aversion and conditioned odor aversion. *Behav Neurosci*, **120**,1257-1267.

Rosenblum, K., Meiri, N. & Dudai, Y. (1993) Taste memory: the role of protein synthesis in gustatory cortex. *Behav Neural Biol*, **59**, 49-56.

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

Royet, J.P. (1983) Les aspects comportementaux de l'aversion conditionnée et de la néophobie. *L'année Biologique*, **22**, 113-167.

Royet, J.P. & Pager, J. (1981) Olfactory bulb responsiveness to an aversive or novel food odor in the unrestrained rat. *Brain Res Bull*, **7**, 375-378.

Rozin, P. (1982) "Taste-smell confusions" and the duality of the olfactory sense. *Percept. Psychophys.*, **31**, 397-401.

Rozin, P. (2002) Human Food Intake and Choice: Biological, Psychological and Cultural Perspectives. *in: Food Selection From genes to Culture*, Monograph edited by The Danone Institutes 7-24.

Rudrauf, D., Douiri, A., Kovach, C., Lachaux, J.P., Cosmelli, D., Chavez, M., Adam, C., Renault, B., Martinerie, J. & Le Van Quyen, M. (2006) Frequency flows and the time-frequency dynamics of multivariate phase synchronization in brain signals. *NeuroImage*, **31**, 209-227.

Rusiniak, K.W., Hankins, W.G., Garcia, J. & Brett, L.P. (1979) Flavor-illness aversions: potentiation of odor by taste in rats. *Behav. Neural Biol.*, **25**, 1-17.

Rusiniak, K.W., Palmerino, C.C. & Garcia, J. (1982) Potentiation of odor by taste in rats: tests of some nonassociative factors. *J Comp Physiol Psychol*, **96**, 775-780.

-S-

Sah, P., Faber, E.S.L., Lopez De Armentia, M. & Power, J. (2003) The Amygdaloid Complex: Anatomy and Physiology. *Physiol. Rev.*, **83**, 803-834.

Sakai, N. & Imada, S. (2003) Bilateral lesions of the insular cortex or of the prefrontal cortex block the association between taste and odor in the rat. *Neurobiol Learn Mem*, **80**, 24-31.

Sakai, N. & Yamamoto, T. (2001) Effects of excitotoxic brain lesions on taste-mediated odor learning in the rat. *Neurobiol Learn Mem*, **75**, 128-139.

Sako, N., Ohashi, R., Sakai, N, Katsukawa, H. & Sugimura, T. (2004) Conditioned food aversion elicited by the temperature of drinking water as a conditioned stimulus in rats. *Physiol Behav*, **83**, 93-98.

Salinas, E. & Sejnowski, T.J. (2001) Correlated Neuronal Activity and the Flow of Neural Information. *Nat. Rev. Neurosci.*, **2**, 539-550.

Savander, V., LeDoux, J.E. & 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.

Schaal, B. & Schaal, A. (1980) Aspects olfactifs du lien mère-jeune chez les Mammifères. *Bulletin de la société d'histoire Naturelle de Colmar*, **57**, 83-96.

Schnelker, J. & Batsell, W.R., Jr. (2006) Within-compound associations are not sufficient to produce taste-mediated odor potentiation. *Behav Processes*, **73**, 142-148.

Schoenbaum, G. & Eichenbaum, H. (1995) Information coding in the rodent prefrontal cortex. I. Single-neuron activity in orbitofrontal cortex compared with that in pyriform cortex. *J Neurophysiol*, **74**, 733-750.

Schoenbaum, G., Chiba, A.A. & Gallagher, M. (1999) Neural encoding in orbitofrontal cortex and basolateral amygdala during olfactory discrimination learning. *J Neurosci*, **19**, 1876-1884.

Schoenbaum, G., Setlow, B., Saddoris, M.P. & 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.

Schul, R., Slotnick, B.M. & Dudai, Y. (1996) Flavor and the frontal cortex. *Behav Neurosci*, **110**, 760-765.

Scott, J.W., Acevedo, H.P., Sherrill, L. & Phan, M. (2007) Responses of the Rat Olfactory Epithelium to Retronasal Air Flow. *J Neurophysiol*, **97**, 1941-1950.

Sederberg, P.B., Schulze-Bonhage, A., Madsen, J.R., Bromfield, E.B., McCarthy, D.C., Brandt, A., Tully, M.S. & Kahana, M.J. (2007) Hippocampal and neocortical gamma oscillations predict memory formation in humans. *Cereb Cortex*, **17**, 1190-1196.

Sesack, S.R., Deutch, A.Y., Roth, R.H. & Bunney, B.S. (1989) Topographical organization of the efferent projections of the medial prefrontal cortex in the rat: an anterograde tract-tracing study with Phaseolus vulgaris leucoagglutinin. *J Comp Neurol*, **290**, 213-242.

Sevelinges, Y., Gervais, R., Messaoudi, B., Granjon, L. & Mouly, A.M. (2004) Olfactory fear conditioning induces field potential potentiation in rat olfactory cortex and amygdala. *Learn Mem*, **11**, 761-769.

Sevelinges, Y., Sullivan, R.M., Messaoudi, B. & Mouly, A.M. (2008) Neonatal odor-shock conditioning alters the neural network involved in odor fear learning at adulthood. *Learn Mem*, **15**, 649-656.

Sevelinges, Y., Desgranges, B. & Ferreira, G. (2009) The basolateral amygdala is necessary for the encoding and the expression of odor memory. *Learn Mem*, in press

Sewards, T.V. & Sewards, M.A. (2001) Cortical association areas in the gustatory system. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, **25**, 395-407.

Sewards, T.V. & Sewards, M.A. (2001) On the Correlation between Synchronized Oscillatory Activities and Consciousness. *Conscious Cogn.*, **10**, 485-495.

Shadlen, M.N. & Movshon, J.A. (1999) Synchrony unbound: a critical evaluation of the temporal binding hypothesis. *Neuron*, **24**, 67-77, 111-125.

Shepherd, G.M. (2006) Smell images and the flavour system in the human brain. *Nature*, **444**, 316-321.

Shepherd, G.M. (2007) Perspectives on Olfactory Processing, Conscious Perception, and Orbitofrontal Cortex, *Ann N Y Acad Sci*, **1121**, 87-101.

Shi, C.-J. & Cassell, M.D. (1998) Cortical, thalamic, and amygdaloid connections of the anterior and posterior insular cortices. *J. Comp. Neurol.*, **399**, 440-468.

Shipley, M.T. & Ennis, M. (1996) Functional organization of olfactory system. *J Neurobiol*, **30**, 123-176.

Shipley, M.T. & Geinisman, Y. (1984) Anatomical Evidence for Convergence of Olfactory, Gustatory, and Visceral Afferent Pathways in Mouse Cerebral Cortex. *Brain Res Bull.*, **12**, 221-226.

Shipley, M.T. & Sanders, M.S. (1982) Special senses are really special: evidence for a reciprocal, bilateral pathway between insular cortex and nucleus parabrachialis. *Brain Res Bull*, **8**, 493-501.

Silver, W.L. & Moulton, D.G. (1982) Chemosensitivity of rat nasal trigeminal receptors. *Physiology & behavior*, **28**, 927-931.

Singer, W. (1993) Synchronization of cortical activity and its putative role in information processing and learning. *Annu. Rev. Physiol.*, **55**, 349-374.

Singer, W. (1999) Neuronal synchrony: a versatile code for the definition of relations? *Neuron*, **24**, 49-65, 111-125.
Singer, W. & Gray, C.M. (1995) Visual feature integration and the temporal correlation hypothesis. *Annu Rev Neurosci*, **18**, 555-586.
Slotnick, B.M., Westbrook, F. & Darling, F.M.C. (1997) What the rat's nose tells the rat's mouth: Long delay aversion conditioning with aqueous odors and potentiation of taste by odors. *Anim. learn. Behav.*, **25**, 357-369.
Small, D.M. & Prescott, J. (2005) Odor/taste integration and the perception of flavor. *Exp Brain Res.*, **166**, 345-357.
Small, D.M., Bender, G., Veldhuizen, M.G., Rudenga, K., Nachtigal, D. & Felsted, J. (2007) The role of the human orbitofrontal cortex in taste and flavor processing. *Ann N Y Acad Sci*, **1121**, 136-151.
Small, D.M., Gerber, J.C., Mak, Y.E. & Hummel, T. (2005) Differential Neural Responses Evoked by Orthonasal versus Retronasal Odorant Perception in Humans. *Neuron*, **47**, 593-605.
Spencer, C.M. & Houpt, T.A. (2001) Dynamics of c-fos and ICER mRNA expression in rat forebrain following lithium chloride injection. *Brain Res Mol Brain Res*, **93**, 113-126.
Squire, L.R. (1986) Mechanisms of memory. *Science*, **232**, 1612-1619.
Staubli, U., Fraser, D., Faraday, R. & Lynch, G. (1987) Olfaction and the "data" memory system in rats. *Behav Neurosci*, **101**, 757-765.
Staubli, U., Schottler, F. & Nejat-Bina, D. (1987) Role of dorsomedial thalamic nucleus and piriform cortex in processing olfactory information. *Behav Brain Res*, **25**, 117-129.
Stevenson, R.J. & Wilson, D.A. (2007) Odour perception: an object-recognition approach. *Perception*, **36**, 1821-1833.
Stone, M.E., Grimes, B.S. & Katz, D.B. (2005) Hippocampal inactivation enhances taste learning. *Learn Mem*, **12**, 579-586.
Stopfer, M., Bhagavan, S., Smith, B.H. & Laurent, G. (1997) Impaired odour discrimination on desynchronization of odour-encoding neural assemblies. *Nature*, **390**, 70-74.
Stripling, J.S. & Patneau, D.K. (1999) Potentiation of late components in olfactory bulb and piriform cortex requires activation of cortical association fibers. *Brain Res*, **841**, 27-42.
Sun, B.C. & Halpern, B.P. (2005) Identification of Air Phase Retronasal and Orthonasal Odorant Pairs. *Chem. Senses*, **30**, 693-706.
Swanson, L.W. & Petrovich, G.D. (1998) What is the amygdala? *Trends Neurosci.*, **21**, 323-331.

-T-

Tait, D.S. & Brown, V.J. (2007) Difficulty overcoming learned non-reward during reversal learning in rats with ibotenic acid lesions of orbital prefrontal cortex. *Ann N Y Acad Sci*, **1121**, 407-420.
Tallon-Baudry, C. (2004) Attention and awareness in synchrony. *Trends Cogn Sci*, **8**, 523-525.
Tallon-Baudry, C., Bertrand, O., Delpuech, C. & Permier, J. (1997) Oscillatory gamma-band (30-70 Hz) activity induced by a visual search task in humans. *J Neurosci*, **17**, 722-734.
Tallon-Baudry, C., Bertrand, O., Delpuech, C. & Pernier, J. (1996) Stimulus specificity of phase-locked and non-phase-locked 40 Hz visual responses in human. *J Neurosci*, **16**, 4240-4249.
Tallon-Baudry, C. & Bertrand, O. (1999) Oscillatory gamma activity in humans and its role in object representation. *Trends Cogn Sci*,, **3**, 151-162.

Tallon-Baudry, C., Bertrand, O. & Fischer, C. (2001) Oscillatory synchrony between human extrastriate areas during visual short-term memory maintenance. *J Neurosci*, **21**, RC177.

Tallon-Baudry, C., Bertrand, O., Peronnet, F. & Pernier, J. (1998) Induced gamma-band activity during the delay of a visual short-term memory task in humans. *J Neurosci*, **18**, 4244-4254.

Tallon-Baudry, C., Kreiter, A. & Bertrand, O. (1999) Sustained and transient oscillatory responses in the gamma and beta bands in a visual short-term memory task in humans. *Visual neuroscience*, **16**, 449-459.

Tanabe, T., Yarita, H., Iino, M., Ooshima, Y. & Takagi, S.F. (1975) An olfactory projection area in orbitofrontal cortex of the monkey. *J Neurophysiol*, **38**, 1269-1283.

Tassoni, G., Lorenzini, C.A., Baldi, E., Sacchetti, B. & Bucherelli, C. (2000) Role of the perirhinal cortex in rats' conditioned taste aversion response memorization. *Behav Neurosci*, **114**, 875-881.

Terreberry, R.R. & Neafsey, E.J. (1983) Rat medial frontal cortex: a visceral motor region with a direct projection to the solitary nucleus. *Brain Res*, **278**, 245-249.

Touzani, K. & Sclafani, A. (2005) Critical role of amygdala in flavor but not taste preference learning in rats. *Eur J Neurosci.*, **22**, 1767-1774.

Tronel, S., Feenstra, M.G. & Sara, S.J. (2004) Noradrenergic action in prefrontal cortex in the late stage of memory consolidation. *Learn Mem*, **11**, 453-458.

Trost, C.A. & Batsell, W.R., Jr. (2004) Taste + odor interactions in compound aversion conditioning. *Learn Behav*, **32**, 440-453.

-U-

Uylings, H.B., Groenewegen, H.J. & Kolb, B. (2003) Do rats have a prefrontal cortex? *Behav Brain Res*, **146**, 3-17.

Uhlhaas, P.J., Haenschel, C., Nikolić, D. & Singer W. (2008) The role of oscillations and synchrony in cortical networks and their putative relevance for the pathophysiology of schizophrenia, *Schizophr Bull.*, **34**, 927-943.

-V-

van Aerde, K.I., Heistek, T.S. & Mansvelder, H.D. (2008) Prelimbic and infralimbic prefrontal cortex interact during fast network oscillations. *PLoS ONE*, **3**, e2725.

Van Eden, C.G. & Buijs, R.M. (2000) Functional neuroanatomy of the prefrontal cortex: autonomic interactions. *Prog Brain Res*, **126**, 49-62.

Vanderwolf, C.H. (2001) The hippocampus as an olfacto-motor mechanism: were the classical anatomists right after all? *Behav Brain Res*, **127**, 25-47.

Varela, F., Lachaux, J.P., Rodriguez, E. & Martinerie, J. (2001) The brainweb: phase synchronization and large-scale integration. *Nat Rev Neurosci*, **2**, 229-239.

Verhagen, J.V. (2007) The neurocognitive bases of human multimodal food perception: Consciousness. *Brain Res. Rev.*, **53**, 271-286.

Verhagen, J.V. & Engelen, L. (2006) The neurocognitive bases of human multimodal food perception: Sensory integration. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, **30**, 613-650.
Verhagen, J.V., Wesson, D.W., Netoff, T.I., White, J.A. & Wachowiak, M. (2007) Sniffing controls an adaptive filter of sensory input to the olfactory bulb. *Nat Neurosci*, **10**, 631-639.

-W-

Wachowiak, M. & Shipley, M.T. (2006) Coding and synaptic processing of sensory information in the glomerular layer of the olfactory bulb. *Semin Cell Dev Biol*, **17**, 411-423.
Welzl, H., D'Adamo, P. & Lipp, H.-P. (2001) Conditioned taste aversion as a learning and memory paradigm. *Behav. Brain Res.*, **125**, 205-213.
Westbrook, R.F., Homewood, J., Horn, K. & Clarke, J.C. (1983) Flavour-odour compound conditioning: odour-potentiation and flavour-attenuation. *The Quarterly journal of experimental psychology*, **35** 13-33.
Whitby-Logan, G.K., Weech, M. & Walters, E. (2004) Zonal expression and activity of glutathione S-transferase enzymes in the mouse olfactory mucosa. *Brain Res*, **995**, 151-157.
Wilson, D.A. (2000) Odor specificity of habituation in the rat anterior piriform cortex. *J Neurophysiol*, **83**, 139-145.
Wilson, D.A. (2003) Rapid, experience-induced enhancement in odorant discrimination by anterior piriform cortex neurons. *J Neurophysiol*, **90**, 65-72.
Wirth S, Ferry B, Di Scala G. (1998) Facilitation of olfactory recognition by lateral entorhinal cortex lesion in rats. *Behav Brain Res.*, **91**, 49-59.

-Y-

Yamamoto, T., Yuyama, N. & Kawamura, Y. (1981) Cortical neurons responding to tactile, thermal and taste stimulations of the rat's tongue. *Brain Res,* **221**, 202-206.
Yamamoto, T., Fujimoto, Y., Shimura, T. & Sakai, N. (1995) Conditioned taste aversion in rats with excitotoxic brain lesions. *Neurosci Res*, **22**, 31-49.
Yamamoto, T., Shimura, T., Sako, N., Yasoshima, Y. & Sakai, N. (1994) Neural substrates for conditioned taste aversion in the rat. *Behav. Brain Res.*, **65**, 123-137.
Yamamoto, T., Yuyama, N., Kato, T. & Kawamura, Y. (1985) Gustatory responses of cortical neurons in rats. II. Information processing of taste quality. *J Neurophysiol*, **53**, 1356-1369.
Yasoshima, Y., Morimoto, T. & Yamamoto, T. (2000) Different disruptive effects on the acquisition and expression of conditioned taste aversion by blockades of amygdalar ionotropic and metabotropic glutamatergic receptor subtypes in rats. *Brain Res*, **869**, 15-24.
Yasoshima, Y., Shimura, T. & Yamamoto, T. (1995) Single unit responses of the amygdala after conditioned taste aversion in conscious rats. *Neuroreport*, **6**, 2424-2428.
Yasoshima, Y. & Yamamoto, T. (1998) Short-term and long-term excitability changes of the insular cortical neurons after the acquisition of taste aversion learning in behaving rats. *Neuroscience*, **84**, 1-5.

Youngentob, S.L., Mozell, M.M., Sheehe, P.R. & Hornung, D.E. (1987) A quantitative analysis of sniffing strategies in rats performing odor detection tasks. *Physiol Behav*, **41**, 59-69.

-Z-

Zald, D.H. & Pardo, J.V. (1997) Emotion, olfaction, and the human amygdala: amygdala activation during aversive olfactory stimulation. *P.N.A.S.*, **94**, 4119-4124.

Zatorre, R.J., Jones-Gotman, M., Evans, A.C. & Meyer, E. (1992) Functional localization and lateralization of human olfactory cortex. *Nature*, **360**, 339-340.

Zibrowski, E.M. & Vanderwolf, C.H. (1997) Oscillatory fast wave activity in the rat pyriform cortex: relations to olfaction and behavior. *Brain research*, **766**, 39-49.

Zinyuk, L.E., Datiche, F. & Cattarelli, M. (2001) Cell activity in the anterior piriform cortex during an olfactory learning in the rat. *Behavioural brain research*, **124**, 29-32.

Annexe

COMMUNICATIONS ORALES

Ravel N., Martin C., Chapuis J. & Gervais R. Mapping learning-induced modulations of oscillatory activity in the olfactory memory network: a new functional imagery? *18ème congrès de l'ECRO (European Chemoreception Research Organisation), 2008, Portorož, Slovénie.*

Chapuis J., Messaoudi B., Gervais R. & Ravel N. La synchronisation neuronale au sein d'un réseau de structures cérébrales distribuées : une solution pour la représentation d'objet en mémoire ? *3ème colloque du Groupe de Recherche Neuromem, 2007, Montpellier, France.*

Litaudon P., Buonviso N., Cenier T., Martin C., Chapuis J. & Ravel N. Odor-induced oscillatory dynamics in the rat piriform cortex. *29ème meeting de l'AChemS (Association for Chemoreception Sciences), 2007, Sarasota, USA.*

Ravel N., Martin C., Gervais R. & Chapuis J. Mapping learning-induced modulations of oscillatory activity: a new functional imagery ? *2ème colloque des Neurosciences de la Mediterranée, 2006, Marrakech, Maroc.*

Ferreira G., Chapuis J., Desgranges B. & Ravel N. Food Olfactory Memory: behavioral and neurobiological aspects of the conditioned odor aversion in rats. *2ème colloque du Groupe de Recherche Neuromem, 2006, Talence, France.*

POSTERS

Ravel N., Messaoudi B., Ferreira G., Gervais, R. & Chapuis J. Conditioned Odor Aversion might involve different neural networks depending on how odor was experienced during Acquisition. *1er congrès international Aquitaine Neurosciences, 2008, Arcachon, France.*

Chapuis J., Messaoudi B., Ferreira G., Gervais, R. & Ravel N. Different neural networks involved in conditioned odor aversion learning according to orthonasal and retronasal odor presentations. *37ème meeting de la SfN (Society for Neuroscience), 2007, San Diego, USA.*

Chapuis J., Bonnefond M., Messaoudi B., Ferreira G. & Ravel N. Oscillatory dynamics associated to the acquisition of a conditioned odour aversion: The importance of retro-nasal olfactory stimulation. *2ème colloque du Groupe de Recherche Neuromem, 2006, Talence, France.*

Chapuis J., Bonnefond M., Messaoudi B., Ferreira G. & Ravel N. Oscillatory dynamics associated to the acquisition of a conditioned odour aversion: The importance of retronasal olfactory stimulation. *5ème forum de la FENS (European Neuroscience Society), 2006, Vienne, Autriche.*

Chapuis J., Bonnefond M., Messaoudi B., Ferreira G. & Ravel N. Odor induces dynamic changes in a distributed neural network following Conditionned Odor Aversion learning in rats. *14ème congrès des Neurosciences de la fondation IPSEN, 2006, Paris, France.*

Ravel N., Bonnefond M., Chapuis J., Messaoudi B. & Ferreira G. Odor induces dynamic changes in a distributed neural network following Conditionned Odor Aversion learning in rats. *35ème meeting de la SfN (Society for Neuroscience), 2005, Washington D.C., USA.*

Chapuis J., Bonnefond M., Messaoudi B., Ferreira G. & Ravel N. Odor induces dynamic changes in a distributed neural network following Conditionned Odor Aversion learning in rats. *2ème colloque du Groupe de Recherche Neuromem, 2005, Bron, France.*