

N° d'ordre : 2519

THESE

PRESENTEE A

L'UNIVERSITE BORDEAUX I

ECOLE DOCTORALE : Sciences du Vivant, Géosciences, Sciences de l'environnement

Par

Cyril HERRY

POUR L'OBTENTION DU GRADE DE

DOCTEUR

SPECIALITE : NEUROSCIENCES ET PHARMACOLOGIE

**PLASTICITE DE L'EFFICACITE DES SYNAPSES DU CORTEX PREFRONTAL
MEDIAN CHEZ LA SOURIS : IMPLICATIONS DANS LE MAINTIEN DE
L'EXTINCTION DE LA PEUR APPRISE**

M. Robert Jaffard (Pr-Bordeaux, Président)

M. François Roman (Pr-Marseille, Rapporteur)

Mme Thérèse Jay (CR-INSERM-Paris Sud, Rapporteur)

M. Satoru Otani (CR-INSERM-Paris, Examineur)

Mme Susan Sara (DR-CNRS-Paris, Examineur)

M. René Garcia (Pr-Nice, Directeur)

REMERCIEMENTS

A mon père

L'ensemble des travaux présentés dans cette thèse ont été réalisés à l'Université Bordeaux I, dans le laboratoire de Neurosciences Cognitives du Professeur Robert Jaffard et sous la direction du Professeur René Garcia.

Je tiens à remercier en premier lieu le Professeur Jaffard de m'avoir accueilli dans son laboratoire au cours de ma Maîtrise de Sciences Cognitives et de m'avoir permis d'éviter les affres du service militaire en m'acceptant en tant qu'objecteur de conscience dans son laboratoire. Je tiens également à lui témoigner ma gratitude pour avoir systématiquement été présent et compréhensif lors des petits et des plus gros soucis de ces dernières années. Enfin, il m'est agréable de lui témoigner ma reconnaissance pour m'avoir permis de réaliser mes travaux de recherche dans une grande liberté, notamment au cours de cette dernière année de thèse.

Il m'est particulièrement agréable de remercier chaleureusement le Professeur René Garcia pour ces années d'encadrement, son apprentissage pointu, ses qualités scientifiques et humaines, sa grande disponibilité, sa rigueur, ainsi que pour la grande part de liberté qu'il m'a laissé au cours de ces trois années de thèse. Qu'il trouve ici ma plus profonde gratitude et mes remerciements les plus sincères pour sa formation extrêmement enrichissante sur les techniques électrophysiologiques. Je tiens également à le remercier de m'avoir fait partager le plaisir et la passion de la démarche scientifique ainsi que de m'avoir soutenu dans les moments difficiles. Je souhaite que le travail présenté ici soit à la hauteur des qualités incontestables de la formation que j'ai reçu avec lui.

Je souhaite également remercier sincèrement le docteur Thérèse Jay et le Professeur François Roman pour m'avoir fait l'honneur d'être rapporteur de cette thèse ainsi que les docteurs Susan Sara et Satoru Otani pour avoir accepté d'examiner mon travail. C'est avec un immense plaisir que j'ai pu les rencontrer au cours de la soutenance de ma thèse. Les échanges ainsi que les critiques constructives faites sur cette thèse m'ont permis de terminer et de compléter ce travail.

Je témoigne également ma reconnaissance au docteur Nicole Mons, pour m'avoir initié aux techniques immunohistochimiques au cours de cette troisième année de thèse. Notre collaboration à été fructueuse, enrichissante, profondément humaine et je la remercie chaleureusement pour son travail assidu sur la thèse et les bons moments passés et à venir.

Le docteur Etienne Coutureau m'a fait l'immense plaisir de m'assister dans la préparation de mon oral de soutenance, ses critiques constructives, sa bonne humeur et sa sympathie m'ont permis d'aborder sereinement cette soutenance de thèse. Je tiens à l'en remercier sincèrement.

Bien évidemment, je tiens à remercier l'ensemble des étudiants du laboratoire pour leur sympathie, leur bonne humeur et en particulier les docteurs Nicole Etchamendy, Aurélie Célerier, Gaël Malleret, et Rose-Marie Vouimba ainsi que Stéphane Valério, Ludovic Calendreau, Ali Krazem, et Pierre Trifilieff. Enfin, j'ai une pensée toute particulière pour mon compère Thibault Maviel avec qui les échanges scientifiques, les fous rires et les moments de détente ne se comptent plus.

Je remercie également l'ensemble des chercheurs et enseignants chercheurs du laboratoire, pour leurs excellents cours, les discussions enrichissantes et les petits coups de pouce dans les moments difficiles et en particulier, les Professeurs Jacques Micheau, et Daniel Galey, les docteurs

Tom Durkin, Xavier Nogues, Bruno Bontempi, Yoon Cho, Marie-Christine Buhot, Luis Ségu et Aline Marighetto.

J'ai une pensée toute particulière pour le Professeur Françoise Le Menn et le Docteur Blandine Davail-Cuisset, qui m'ont accepté dans le laboratoire de reproduction des poissons pour un stage de 6 mois effectué au cours de mon DEUG et qui ont su m'initier et faire grandir en moi cette envie profonde de faire de la recherche. Merci pour tout.

L'existence d'un laboratoire repose en outre sur le personnel administratif et technique que je remercie chaleureusement et en particulier, Thierry Lafon pour le temps passé à construire le dernier poste électrophysiologique et ses connaissances en électronique et électricité, Dominique Panzeri, Marie-Thérèse Roy, Laurence Decorte et Laurence Schlosser, pour leur gentillesse, leurs compétences et leur bonne humeur, Eric Basier pour ses compétences informatiques et Cédric Cortes-Torrea pour les petits coups de pouce passés.

Je souhaite également la bienvenue au Professeur Georges Di Scala qui reprend le flambeau du Professeur Jaffard dès cette année pour une nouvelle aventure.

Cette thèse n'aurait pas vu le jour sans la rencontre avec mon ange qui a su m'aimer, me comprendre et me soutenir dans les moments pénibles depuis 13 ans et me donner un cadre propice à l'élaboration de ce travail de thèse. Cette thèse est le fruit de mon épanouissement personnel dont tu es en grande partie responsable. Je m'excuse pour les nombreux week-end passé loin de toi et je te témoigne ici tout mon amour. J'embrasse enfin tendrement ma jolie belle maman et mon tendre beau frère pour tout l'amour qu'il m'a apporté depuis 13 ans.

RESUME

Partant de la théorie neurobiologique de l'apprentissage et de la mémoire qui suggère que les phénomènes de plasticité synaptique peuvent être impliqués dans le maintien des informations nouvellement acquises, nous avons émis l'hypothèse selon laquelle un apprentissage basé sur l'inhibition d'un comportement acquis peut être caractérisé, dans certains circuits cérébraux, par un changement de polarité de la plasticité synaptique initiale. Ce changement de polarité pourrait jouer un rôle fondamental dans la rétention du nouvel apprentissage et de ce fait s'opposer à la persévération de la réponse initialement acquise. Sachant que le cortex préfrontal médian (CPFm) est impliqué dans l'inhibition du phénomène de persévération, nous avons analysé, chez la souris C57BL/6, si les synapses excitatrices de cette structure codent l'inhibition de la persévération émotionnelle, c'est-à-dire le maintien de l'extinction de la peur apprise. Pour cela, nous avons principalement utilisé l'approche électrophysiologique couplée au conditionnement de la peur (association « son-choc »), qui était suivi par une exposition ultérieure des animaux au stimulus conditionnel (le son) seul (procédure d'extinction).

Les résultats obtenus montrent que la procédure d'extinction, entraînant une diminution progressive de la peur apprise (diminution de l'immobilité conditionnelle à la perception du son), s'accompagne d'une séquence « dépression-potentialisation » de l'efficacité synaptique préfrontale. Nous avons ensuite analysé les relations liant la plasticité synaptique préfrontale (induite soit naturellement par l'épreuve d'extinction, soit artificiellement par des stimulations appropriées du thalamus médio-dorsal) au maintien ou à l'absence de maintien de l'extinction de la peur apprise. Nos résultats montrent que le maintien de la dépression (à l'aide d'une stimulation thalamique à basse fréquence) est associé à une persévération émotionnelle (absence de rétention à long terme de l'extinction), alors que la potentialisation naturelle (consécutive à l'extinction) ou artificielle (à l'aide d'une stimulation thalamique à haute fréquence) est associée à un maintien à long terme de l'extinction. Ces données électrophysiologiques ont été confirmées sur le plan immunohistochimique par l'observation, au cours de l'extinction, d'une conversion de la dépression préfrontale de l'immunoréactivité des gènes *c-fos* et *zif268* en potentialisation, et un maintien de la potentialisation de l'immunoréactivité au cours du test de rétention de l'extinction.

Ces travaux suggèrent que les synapses excitatrices préfrontales participent à l'inhibition de la persévération émotionnelle sous la forme d'une amplification durable de leur efficacité. Cette potentialisation synaptique préfrontale, en interaction avec les circuits amygdaliens, pourrait contribuer aux processus d'élimination de certains troubles anxieux.

ABSTRACT

An influential neurobiological theory of learning and memory suggests that synaptic plasticity is implicated in long-term memory retention of newly acquired information. Based upon this hypothesis we postulated that a new learning based on behavioral inhibition could be characterised, in certain brain areas, by modifications in the polarity of initially-induced synaptic plasticity. These modifications could play an important role in the long-term retention of this learning, acting against perseveration of the initial response. Since the medial prefrontal cortex (mPFC) has been implicated in the inhibition of cognitive and emotional perseveration, we analysed, in C57BL/6 mice, if mPFC excitatory synapses are implicated in the long-term retention of extinguished fear. To achieve this goal, we used extracellular electrophysiological recordings in mice which were submitted to a fear conditioning procedure consisting of several presentations of a tone (conditional stimulus = CS)-shock (unconditional stimulus = US) couple followed by several tone alone presentations (extinction procedure).

Our results show that extinction of learned fear is associated both with a progressive decrease of learned fear and a sequence of inversion (from depression to potentiation) of mPFC synaptic efficacy. Moreover, induction of long-term potentiation in the mPFC by high-frequency stimulation of the medio-dorsal thalamus during extinction results in a lack of recovery of extinguished fear when tested one week following extinction, while long-term depression-like changes were associated with a return of fear. These results were confirmed by our immunohistochemical data showing that c-fos and zif268 immunoreactivity in the mPFC was strongly decreased at the onset of extinction, potentiated at the end of extinction and maintained across the long-term retention of extinguished fear.

These results suggest that long lasting potentiation of synaptic efficacy in mPFC is implicated in the inhibition of emotional perseveration and could contribute, via an interaction with the amygdala, to elimination processes in certain anxiety disorders.

SOMMAIRE

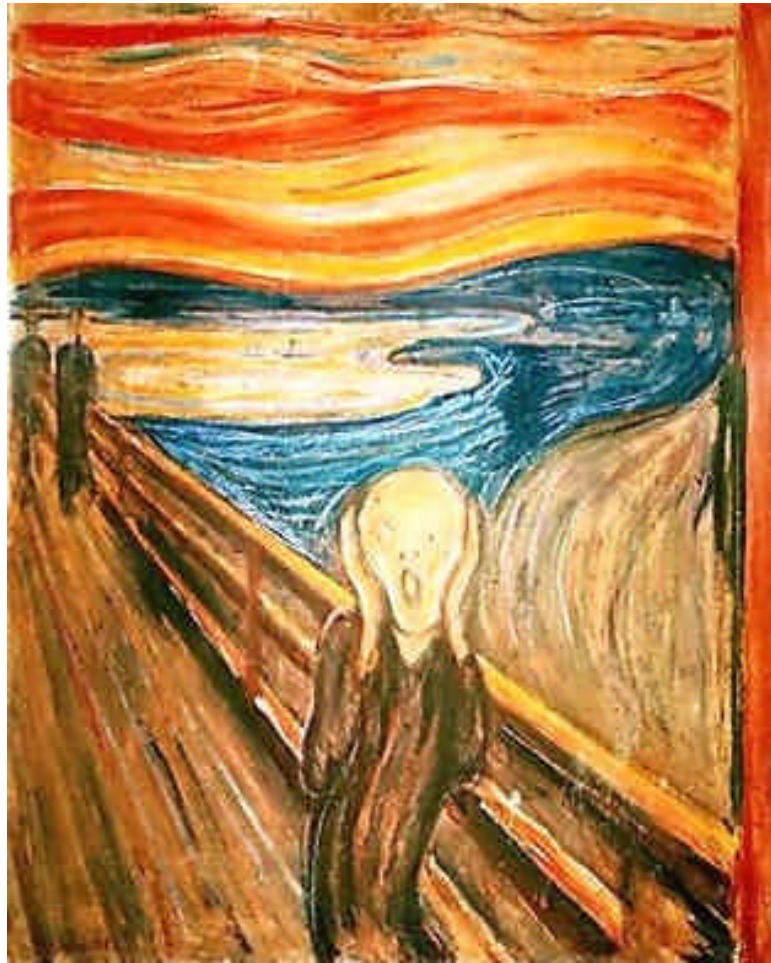
CHAPITRE I : INTRODUCTION GENERALE	1
<i>A/ CONDITIONNEMENT TRAUMATIQUE</i>	1
<i>B/ INHIBITION DU CONDITIONNEMENT TRAUMATIQUE</i>	2
<i>1/ Le contre conditionnement et l'inhibition conditionnée de la peur apprise</i>	3
<i>2/ L'extinction de la peur apprise</i>	4
<i>C/ PLASTICITE SYNAPTIQUE ASSOCIEE A L'ACQUISITION DE LA PEUR CONDITIONNEE ET SON INHIBITION</i>	5
<i>1/ Le phénomène de plasticité synaptique</i>	5
<i>a/ La potentialisation à long terme</i>	5
<i>b/ La dépression à long terme</i>	7
<i>c/ Bidirectionnalité de la plasticité synaptique</i>	8
<i>2/ Plasticité synaptique, apprentissage et mémoire</i>	9
<i>a/ Relation entre la plasticité synaptique, l'apprentissage et la mémoire</i>	9
<i>b/ Plasticité synaptique associée à l'acquisition de la peur conditionnée</i>	10
<i>c/ Plasticité synaptique associée à l'inhibition du conditionnement aversif</i>	11
<i>D/ LE CORTEX PREFRONTAL MEDIAN</i>	12
<i>1/ Considérations anatomiques</i>	12
<i>a/ Caractérisations anatomiques</i>	12
<i>b/ Anatomie du CPF chez le rongeur</i>	13
<i>2/ Considérations fonctionnelles</i>	17
<i>3/ Plasticité synaptique préfrontale</i>	18
<i>E/ OBJECTIFS DU TRAVAIL</i>	19
CHAPITRE II : METHODOLOGIE GENERALE	21
<i>A/ SUJETS D'EXPERIENCE</i>	21

<i>B/ ANALYSES COMPORTEMENTALES</i>	22
1/ <i>Conditionnement aversif indiciel</i>	22
2/ <i>Extinction et retour de la peur apprise</i>	22
3/ <i>Appareillage et déroulement des protocoles expérimentaux</i>	23
a/ <i>Appareillage</i>	23
b/ <i>Déroulement des protocoles expérimentaux</i>	25
<i>C/ TECHNIQUES ELECTROPHYSIOLOGIQUES</i>	26
1/ <i>Implantation</i>	26
2/ <i>Stimulation et enregistrement</i>	27
3/ <i>Habituation aux enregistrements électrophysiologiques</i>	29
<i>D/ TECHNIQUES IMMUNOHISTOCHIMIQUES</i>	29
1/ <i>Protocole expérimental</i>	29
2/ <i>Perfusion et coupe des cerveaux</i>	30
3/ <i>Protocole immunohistochimique</i>	30
<i>E/ ANALYSES HISTOLOGIQUES</i>	31
<i>F/ ANALYSES STATISTIQUES</i>	31
1/ <i>Tests paramétriques</i>	31
2/ <i>Signification statistique des résultats</i>	32
CHAPITRE III : CARACTERISTIQUES DES REPONSES EVOQUEES PREFRONTALES ..	33
<i>A/ MATERIEL ET METHODES</i>	34
1/ <i>Animaux</i>	34
2/ <i>Les opérations</i>	34
3/ <i>Procédure expérimentale</i>	35
<i>B/ RESULTATS</i>	36
1/ <i>Paramètres mesurés</i>	36
2/ <i>Variation de l'intensité de la stimulation</i>	37
3/ <i>Emplacement de l'électrode d'enregistrement</i>	38
4/ <i>Emplacement de l'électrode de stimulation</i>	39

5/ Stimulation à basse fréquence.....	41
6/ Stimulation à haute fréquence.....	43
7/ Effet d'un double choc.....	44
C/ DISCUSSION.....	50
1/ Signification des composantes du potentiel de champ préfrontal.....	50
2/ Potentialisation et dépression préfrontale à long terme.....	51
3/ Plasticité transitoire.....	53
CHAPITRE IV : PLASTICITE SYNAPTIQUE PREFRONTALE ASSOCIEE AU CONDITIONNEMENT DE LA PEUR ET SON EXTINCTION.....	56
A/ EXPERIENCE I : EFFETS DU NOMBRE D'ASSOCIATIONS SON-CHOC SUR LE NIVEAU D'EXPRESSION DE LA RECI ET LE DEGRE DE PLASTICITE SYNAPTIQUE PREFRONTALE.....	58
1/ Matériel et méthodes.....	58
2/ Résultats.....	60
B/ EXPERIENCE II : ETUDE DE L'EVOLUTION DES MODIFICATIONS DES REPOSES EVOQUEES THALAMO-PREFRONTALES AU COURS DE L'EXTINCTION DE LA PEUR APPRISE.....	62
1/ Matériel et méthodes.....	62
2/ Résultats.....	65
C/ DISCUSSION.....	69
1/ Plasticité associée au conditionnement de peur.....	69
2/ Plasticité associée à l'extinction de la peur apprise.....	70
CHAPITRE V : SIGNIFICATION FONCTIONNELLE DES CHANGEMENTS D'EFFICACITE SYNAPTIQUE PREFRONTALE AU COURS DE L'EXTINCTION DE LA PEUR APPRISE.....	73
A/ EXPERIENCE I : ETUDE DES EFFETS DE LA DLT SUR L'EXTINCTION DE LA PEUR APPRISE.....	75
1/ Matériel et méthodes.....	75

<i>2/ Résultats</i>	78
<i>B/ EXPERIENCE II : EFFETS D'UN PROTOCOLE INDUISANT UNE RESISTANCE A L'EXTINCTION DE LA PEUR APPRISE SUR LA PLASTICITE SYNAPTIQUE PREFRONTALE</i>	82
<i>1/ Matériel et méthodes</i>	82
<i>2/ Résultats</i>	83
<i>C/ EXPERIENCE III : ANALYSE DU ROLE DE LA PLASTICITE SYNAPTIQUE PREFRONTALE DANS LE MAINTIEN DE L'EXTINCTION DE LA PEUR APPRISE</i>	86
<i>1/ Matériel et méthodes</i>	87
<i>2/ Résultats</i>	91
<i>C/ DISCUSSION</i>	97
<i>1/ Implication du cortex préfrontal médian dans le contrôle du phénomène de persévération émotionnelle</i>	97
<i>2/ Implication du cortex préfrontal médian dans le maintien à long terme du phénomène d'extinction de la peur apprise</i>	99
<i>CHAPITRE VI : IMPLICATION DU CORTEX PREFRONTAL MEDIAN DANS LES MECANISMES DE MAINTIEN DE L'EXTINCTION DE LA PEUR APPRISE : APPROCHE IMMUNOHISTOCHIMIQUE</i>	101
<i>A/ ETUDE DE L'IMMUNOREACTIVITE C-FOS ET ZIF268 AU NIVEAU DU CPFM AU COURS DE LA TACHE D'EXTINCTION DE LA PEUR APPRISE</i>	103
<i>1/ Matériel et méthodes</i>	103
<i>2/ Immunohistochimie</i>	105
<i>a/ Perfusion et coupe des cerveaux</i>	105
<i>b/ Immunohistochimie</i>	105
<i>c/ Analyses immunohistochimiques</i>	105
<i>3/ Résultats</i>	106
<i>B/ DISCUSSION</i>	122
<i>1/ Immunoréactivité préfrontale c-fos et zif268 au cours de l'extinction de la peur apprise</i>	122

<i>2/ Variations des immunoréactivités c-fos et zif268 dans le complexe basolatéral de l'amygdale au cours de l'extinction de la peur apprise.....</i>	<i>123</i>
CHAPITRE VII : CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES.....	126
<i>A/ LE CPFM ET L'ACQUISITION ET LE MAINTIEN DE L'EXTINCTION DE LA PEUR APPRISE.....</i>	<i>128</i>
<i>B/ MODELE D'INTERACTION PREFRONTO-AMYGDALIEN.....</i>	<i>129</i>
<i>C/ IMPLICATIONS CLINIQUES.....</i>	<i>131</i>
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	133
LEXIQUE.....	169



Le cri, Edvard Munch, 1893, pastel et peinture à la tempera sur carton,
91 x 73 cm, Nasjonalgalleriet, Oslo.

I / INTRODUCTION GENERALE.

Il est maintenant bien établi que des troubles psychiatriques, tel que le syndrome de stress post-traumatique, mobilisent des mécanismes d'apprentissage et de mémoire qui constituent le *conditionnement traumatique*. Ces mécanismes sont recrutés et se développent à la suite de l'exposition d'un individu, en général vulnérable, à une situation particulièrement traumatisante (par exemple : une catastrophe naturelle, un accident ou des violences physiques). La *mémoire « traumatique »* qui en résulte (Burgess et coll., 1995) a des conséquences affectives, cognitives et comportementales sévères (March, 1990 ; Earl, 1991 ; Muran et Motta, 1993 ; Markowitsch et coll., 1998 ; Vasterling et coll., 1998 ; Moradi et coll., 1999). Ces conséquences présentent généralement une résistance au traitement (Perconte et Griger, 1991 ; Tomb, 1994) et peuvent être relativement permanentes (Green, 1994 ; Macleod, 1994 ; Stark et coll., 1994). L'établissement de traitements efficaces (par exemple, le couplage de la psychopharmacologie à la thérapie d'exposition, une forme d'*extinction* induite par l'exposition du patient aux stimuli relatifs à son traumatisme initial), nécessite par conséquent une bonne connaissance des *supports neuroanatomiques*, et des *mécanismes moléculaires et cellulaires* impliqués dans l'initiation des troubles et leur maintien. L'une des voies exploitées consiste à établir des *modèles animaux* de ces troubles (initiation et maintien) ainsi que des modèles rendant compte des mécanismes à l'origine du maintien à long terme des effets thérapeutiques (par exemple : *la consolidation durable de l'extinction du conditionnement traumatique*).

A/ Conditionnement traumatique

Le conditionnement traumatique, encore appelé conditionnement de la peur ou conditionnement aversif, résulte de l'association d'au moins deux entités ou événements bien distincts : d'une part, un ou plusieurs stimuli qui n'induisent aucun comportement particulier (stimulus neutre devenant, après association, stimulus conditionnel : SC), et d'autre part, un événement qui produit toujours (stimulus inconditionnel : SI) une série de réactions de peur (réponse inconditionnelle : RI). Le conditionnement traumatique est validé par la capacité du SC à induire seul, ultérieurement, une réponse dite conditionnée (RC).

La première étude scientifique sur le conditionnement de la peur date du début du siècle dernier avec les observations de Betcherev (1913) chez le chien. Cet auteur russe, contemporain de Pavlov, a utilisé dans son expérience deux stimuli : un son neutre n'induisant aucune réponse

particulière, et un choc électrique (SI), provoquant systématiquement le réflexe de flexion de la patte (RI) chez l'animal. Après plusieurs présentations couplées du son et du SI, il va observer que le son seul devient capable (SC) de déclencher la flexion de la patte (RC) de l'animal.

Les travaux sur le conditionnement aversif ont été, par la suite, développés aussi bien chez l'être humain (Jones, 1924 ; Watson et Rayner, 1920 ; Staats et Staats, 1957) que chez l'animal (Miller, 1948) afin de mieux cerner les bases comportementales de ce type d'apprentissage. Ainsi, ces expériences ont permis de confirmer la règle énoncée par Betcherev (1913), selon laquelle n'importe quel stimulus dénué de valeur aversive peut devenir anxiogène s'il est couplé avec une réaction de peur. Ces études indiquent aussi que l'acquisition de la peur sera d'autant plus solide qu'elle aura été renforcée par de nombreuses juxtapositions du couple SC-SI traumatisant. Toutefois, une seule exposition aux deux stimuli (un seul appariement) peut suffire si le SI est violent.

Les études ultérieures vont principalement s'orienter vers la détermination des supports neuroanatomiques du conditionnement traumatique. Ces études ont été réalisées selon différentes approches, notamment lésionnelles (Kapp et coll., 1979 ; Selden et coll., 1991 ; Phillips et LeDoux, 1992 ; Heldt et coll., 2000 ; Goosens et Maren, 2001), électrophysiologiques (Pascoe et Kapp, 1985 ; McKernan et Shinnick-Gallagher, 1997 ; Rogan et coll., 1997), neurochimiques (Tsuda et coll., 1986 ; Inoue et coll., 1993 ; Kawahara et coll., 1993 ; Passani et coll., 2001), pharmacologiques (Muller et coll., 1997 ; Wilensky et coll., 2000) et immunohistochimiques (Campeau et coll., 1991 ; Beck et Fibiger, 1995 ; Campeau et coll., 1997 ; Milanovic et coll., 1998 ; Rosen et coll., 1998). Ces études ayant pour cible majeure l'amygdale, révèlent que cette structure est le support à la fois de l'acquisition et de la commande de l'expression des réponses de peur. Cependant, les noyaux amygdaliens ne semblent constituer qu'un site clé du *système de mémoire implicite* du conditionnement traumatique (LeDoux et Fanselow, 1999 ; LeDoux, 2000 ; Maren, 2001), alors que les aspects cognitifs de ce type de conditionnement (*système de mémoire explicite*) pourraient davantage impliquer des structures comme l'hippocampe (Kim et Fanselow, 1992 ; Phillips et LeDoux, 1992 ; Bechara et coll., 1995), le septum latéral (Garcia et Jaffard, 1996 ; Desmedt et coll., 1998) et le cortex préfrontal (Garcia et coll., 1999).

B/ Inhibition du conditionnement traumatique

Lorsque le conditionnement traumatique se développe chez un être humain avec des conséquences qui entravent sérieusement la vie quotidienne de l'individu, plusieurs approches

thérapeutiques peuvent être utilisées pour tenter d'enrayer ces conséquences et en particulier les approches psychothérapeutiques et la thérapie d'exposition (souvent utilisée dans le traitement de divers troubles anxieux, cas de l'anxiété phobique, de la névrose obsessionnelle et du syndrome de stress post-traumatique). La thérapie d'exposition est directement issue des études comportementales sur l'inhibition du conditionnement traumatique. L'élimination par l'approche comportementale du conditionnement traumatique est également supportée par des mécanismes d'apprentissage et de mémoire. Trois modèles expérimentaux peuvent se distinguer : le contre conditionnement, l'inhibition conditionnée et l'extinction de la peur apprise.

1/ Le contre conditionnement et l'inhibition conditionnée de la peur apprise

Au cours de la procédure de contre conditionnement, le sujet apprend d'abord une association à l'issue de laquelle un stimulus SC1 induit une réponse donnée RC1 (associée à la peur). Ensuite, il apprend une seconde association à l'issue de laquelle un autre stimulus SC2 induit une seconde réponse RC2 (opposée à la peur : réponse associée au plaisir). Le contre conditionnement implique que l'expression de RC2 ait un effet inhibiteur sur celle de RC1. Cette procédure, développée par Jones (1924), a été initialement utilisée dans le but d'élucider les bases comportementales de l'élimination de la peur apprise chez l'enfant. Bien que ce modèle s'applique aussi à l'animal (Wolpe, 1958 ; Herry, 1999), les supports neuroanatomiques ainsi que les mécanismes qui l'établissent demeurent encore inconnus.

Quant à l'inhibition conditionnée, elle se développe si, pendant le conditionnement traumatique, un stimulus SCa n'est jamais renforcé lorsqu'il est signalé par un autre stimulus SCb. Après le conditionnement, SCb inhibe la capacité de SCa à évoquer les RC (Rescorla et LoLordo, 1965). L'inhibition conditionnée se développe aussi bien chez l'être humain (Wilkinson et coll., 1989 ; Neumann et coll., 1997 ; Grillon et Ameli, 2001) que chez l'animal (Rescorla et LoLordo, 1965 ; Rescorla, 1969 ; Gewirtz et coll., 1997 ; Fendt, 1998 ; Garcia et coll., 1999 ; Vouimba et coll., 2000). Son apprentissage pourrait impliquer le septum latéral (Thomas et coll., 1991), le noyau du lit de la strie terminale (Campeau et coll., 1997) et la substance grise centrale (Campeau et coll., 1997 ; Fendt, 1998).

2/ L'extinction de la peur apprise

L'extinction de la peur apprise s'observe lorsqu'un SC, qui évoque des RC associées à la peur, est souvent présenté sans le SI traumatique. Les RC induites par le SC diminuent progressivement et peuvent même disparaître dans certaines conditions (extinction totale). En thérapie d'exposition, l'extinction est induite soit par une exposition directe (*désensibilisation par immersion*) ou indirecte (photographies, diapositives) aux SC, soit par une activation répétée des représentations mentales des SC (*désensibilisation par imagination*).

Le type d'apprentissage lié à l'extinction de la peur apprise a été l'objet de nombreux débats. Une des explications possibles des mécanismes impliqués dans le phénomène d'extinction est la suppression progressive de l'association SC-SI de départ (Estes, 1955). Cette hypothèse prédit qu'à la suite de l'extinction, un SC perd définitivement sa capacité à évoquer les RC du fait de l'effacement central de son association au SI. Au contraire, selon une autre hypothèse (Konorski, 1948), l'apprentissage de l'extinction ne s'explique pas par une disparition de l'association de départ, mais plutôt par l'acquisition d'une nouvelle association masquant la première sans pour autant la supprimer. Cette hypothèse a été confirmée par différentes expériences qui mettent en évidence que l'association de départ (SC-SI) demeure intacte même après une extinction complète de la RC. Nous pouvons citer, à titre d'exemple, les travaux de Bouton (Bouton et Bolles, 1979 ; Bouton et King, 1983 ; Brooks et Bouton, 1994 ; Wilson et coll., 1995) qui montrent effectivement, que si la RC de peur est acquise dans un contexte donné (ou contexte de conditionnement) et éteinte dans un autre contexte (ou contexte d'extinction), la présentation ultérieure du SC dans le contexte d'extinction n'induit pas de RC (ce qui met en évidence le maintien de l'extinction). Cependant, si le SC est présenté à nouveau dans le contexte de conditionnement, on assiste à la réapparition de la RC (maintien de l'association SC-SI). Il a aussi été observé, au cours d'autres expériences, que la simple présentation du SI à la suite de l'extinction était capable de réactiver la capacité du SC à induire la RC jusqu'à des niveaux proches de ceux observés au début de la procédure d'extinction (Pavlov, 1927 ; Rescorla et Heth, 1975 ; Bouton et Bolles, 1979). Cette dernière donnée soutient également l'idée selon laquelle l'association SC-SI se maintient bien au-delà de l'extinction.

C/ Plasticité synaptique associée à l'acquisition de la peur conditionnée et son inhibition

1/ Le phénomène de plasticité synaptique

Une des bases neurobiologiques possible de l'apprentissage et de la mémoire est le phénomène de plasticité synaptique qui recouvre notamment des modifications fonctionnelles (modifications à court terme et à long terme de l'efficacité synaptique) et des modifications morphologiques (croissance neuronale, modifications cytosquelettiques...) des réseaux de neurones activés lors de l'apprentissage.

Parmi les modifications fonctionnelles, on insistera notamment sur les modifications à long terme de l'efficacité synaptique qui englobent les phénomènes de potentialisation à long terme (PLT) et de dépression à long terme (DLT) de l'excitabilité synaptique et qui représentent un modèle cellulaire sous-tendant le stockage des informations nouvellement acquises (Lynch et Baudry, 1984 ; Teyler et DiScenna, 1984 ; Martinez et Derrick, 1996).

a/ La potentialisation à long terme

La première mise en évidence de ce phénomène remonte aux travaux de Bliss et collaborateurs, en 1973, réalisés chez le lapin anesthésié (Bliss et Lomo, 1973) et chez le lapin vigile (Bliss et Gardner-Medwin, 1973). Ces auteurs montrent, en particulier, que l'application d'un train de chocs électriques à haute fréquence (ou stimulation tétanique) au niveau de la voie perforante (voie qui projette du cortex entorhinal sur le gyrus dentelé hippocampique) induit une augmentation rapide et durable de l'efficacité de la transmission synaptique de cette voie.

Les travaux qui ont suivi ont été surtout consacrés à l'étude des propriétés, des mécanismes synaptiques et du rôle fonctionnel de la PLT dans l'apprentissage et la mémoire. Ces travaux ont eu pour cible majeure l'hippocampe compte-tenu de son implication dans les phénomènes mnésiques. Par ailleurs, pratiquement tous les circuits hippocampiques présentent ce phénomène. On note, en effet, une PLT au niveau du gyrus dentelé après la stimulation de la voie perforante médiane ou latérale (McNaughton et coll., 1978), au niveau de l'aire CA3 après la stimulation des fibres moussues du gyrus dentelé (Alger et Teyler, 1976 ; Bliss et Collingridge, 1993) et au niveau de l'aire CA1 après la stimulation des collatérales de Schaffer issues des cellules pyramidales CA3 (Schwartzkroin et Wester, 1975 ; Collingridge et coll., 1983 ; Chetkovitch et coll., 1993) ou bien

des fibres commissurales hippocampiques (Buzsaki, 1980), ou encore de la voie perforante (Colbert and Levy, 1992).

D'autres études précisent que le phénomène de PLT semble se décomposer en deux phases distinctes : une phase d'induction et une phase d'expression ou de maintien (Higashima et Yamamoto, 1985 ; Reymann et coll., 1985), la seconde phase mettant en jeu des cascades d'activation génique et la synthèse de protéines (Frey et coll., 1988 ; Otani et Abraham, 1989 ; Lossner et coll., 1990 ; Fazeli et coll., 1993 ; Nayak et coll., 1998).

En résumé, il apparaît qu'un point déterminant de l'induction de la PLT est l'entrée de calcium dans la cellule post-synaptique. En effet, l'injection d'un chélateur calcique (l'EGTA ou BEPTA) au niveau du neurone postsynaptique par le biais d'une électrode d'enregistrement intracellulaire, induit un blocage de l'induction de la PLT, qu'elle soit dépendante ou non des récepteurs NMDA (Lynch et al, 1983). Dans le cas de la PLT dépendante des récepteurs NMDA, cette entrée calcique se réalise par le biais du canal calcique du récepteur NMDA après levée du bloc magnésium par une dépolarisation post-synaptique suffisante. Par contre, pour une PLT indépendante des récepteurs NMDA, l'influx calcique semble se réaliser par les biais des canaux calciques voltage-dépendants (Grover and Teyler, 1990). L'élévation initiale de calcium est ensuite amplifiée par la libération du calcium intracellulaire induite par l'élévation transitoire en calcium et la production d'inositol triphosphate (IP3) après l'activation des récepteurs métabotropiques du glutamate (mGluR). Ces récepteurs sont couplés par des protéines G à la phospholipase C (PLC), à la phospholipase A2 (PLA2) et à l'adénylate cyclase (AC) qui vont stimuler la production de diacylglycérol (DAG), d'acide arachidonique (AA) et réguler les taux d'AMPc. L'augmentation transitoire calcique, ainsi que la synthèse de ces seconds messagers activent de nombreuses kinases telles que la PKC et la CAMKII qui vont à leur tour phosphoryler de nombreux substrats et en particulier pourraient agir de trois façons différentes sur le maintien ou l'expression de la PLT. Par une action sur les canaux ioniques voltage-dépendants et sur les récepteurs synaptiques ionotropiques (AMPA, NMDA) en augmentant leur sensibilité.

Au niveau présynaptique, par l'activation de plusieurs cascades impliquant la PKC et la CAMKII qui pourrait être déclenchées par l'action des messagers rétrogrades, tels que le monoxyde d'azote (NO), et l'acide arachidonique (AA), en conjonction avec l'activation de récepteurs présynaptiques du glutamate. Enfin, ces cascades enzymatiques, en modulant l'activité de complexes de protéines impliquées dans la mobilisation, l'accrochage et la fusion des vésicules synaptiques, pourraient conduire à une modification durable de la capacité des synapses à libérer le

neurotransmetteur. La stabilisation à long terme de la PLT pourrait mettre en jeu des cascades d'activation génique et la synthèse de protéines.

b/ La dépression à long terme

La DLT (ou image en miroir de la PLT) correspond à une diminution persistante de l'efficacité de la transmission synaptique. La première démonstration de ce phénomène provient des travaux d'Ito en 1982 au niveau du cervelet (Ito, 1982). La DLT se développe généralement à la suite d'une stimulation à basse fréquence d'une quinzaine de minutes. L'intérêt porté à ce phénomène réside dans le fait que son intégration dans les modèles de mémoire permet de satisfaire aux conditions requises pour un codage fin et efficace de l'information (Laroche, 1994). En effet, ces mécanismes qui s'opposent à la PLT peuvent prévenir une éventuelle saturation du système d'encodage et pourraient également jouer un rôle dans les phénomènes d'extinction, d'interférence, d'oubli et d'échec de rappel (Laroche, 1994).

Bien que la mise en place de la PLT et la DLT nécessite une augmentation transitoire de la concentration calcique intracellulaire au niveau post-synaptique, il semble que les voies d'utilisation du calcium soient différentes, d'où les conséquences opposées de ces phénomènes. Il est en effet couramment admis, qu'une faible dépolarisation post-synaptique, et donc une faible entrée calcique intracellulaire, induirait une DLT, alors qu'une dépolarisation plus forte, et donc une entrée massive de calcium, conduirait à une PLT (Lisman, 1989 ; Hirsch et Crépel, 1992 ; Mulkey et Malenka, 1992 ; Burette et coll., 1993). La différence de concentration calcique intracellulaire ainsi que les différentes voies d'entrée du calcium pourraient alors faire entrer en compétition les cascades de kinases et de phosphatases (**Figure I-1**): dans le cas de la PLT, l'activation de kinases favoriserait la phosphorylation de récepteurs membranaires (de type NMDA, AMPA) alors que dans le cas d'une DLT l'activation des phosphatases entraînerait une déphosphorylation (inhibition) des récepteurs (Winder et Sweatt, 2001 ; Lisman et coll., 2002).

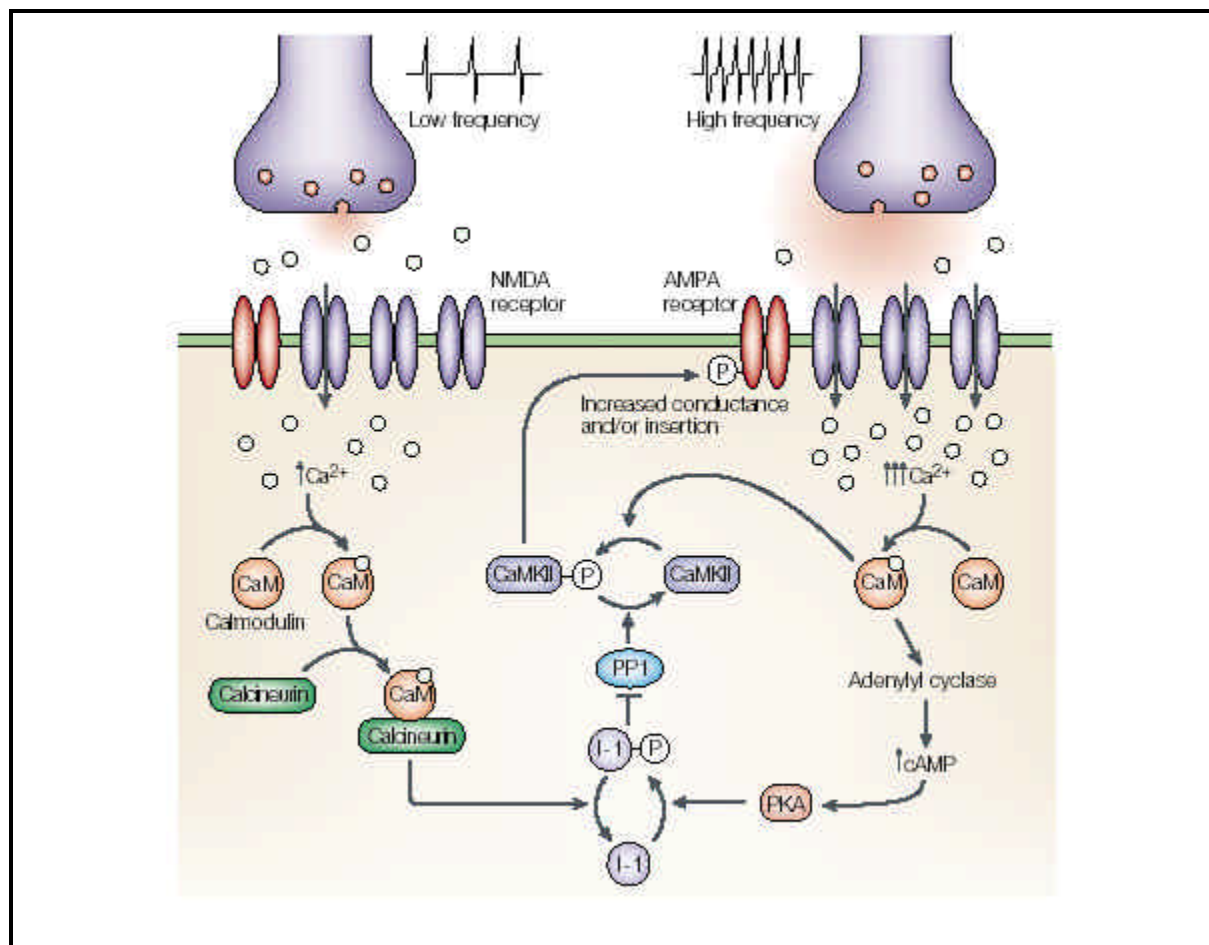


Figure I-1 : Illustration du modèle de Lisman mettant en évidence la capacité d'un même stimulus initial (ici la stimulation d'un récepteur NMDA) à induire soit une PLT soit une DLT en fonction de l'activation spécifique de kinases (PLT) ou de phosphatases (DLT) (Lisman, 1989, 1994). Ce modèle propose que la concentration intracellulaire calcique (Ca^{2+})_i, suite à l'activation des récepteurs NMDA joue un rôle critique dans l'induction de la plasticité synaptique à long terme (PLT ou DLT). Ce modèle est basé sur le fait que, in vitro, la calcineurine (où encore protéine phosphatase 2B -PP2B) a une affinité beaucoup plus importante pour le (Ca^{2+})_i que la calmoduline kinase II (CAMKII) et la kinase c (PKC). Premièrement, une faible activation du récepteur NMDA (partie gauche de la figure) induirait une faible augmentation de (Ca^{2+})_i, ce qui résulterait en une activation préférentielle de la PP2B par rapport à la CAMKII, avec pour conséquence une déphosphorylation de différents substrats membranaires et l'induction d'une DLT. A l'opposé, une forte activation des récepteurs NMDA (partie droite de la figure) entraînerait un influx calcique suffisant pour permettre d'activer les kinases (CAMKII et PKC), ce qui permettrait l'induction d'une PLT. Lisman note toutefois que la PP2B peut être activée par le même stimulus recrutant la CAMKII et la PKC, sauf en cas de l'existence d'un mécanisme de rétrocontrôle inhibiteur. Ainsi, il propose que l'activation d'une adénylate cyclase stimulée par le (Ca^{2+})_i, suite à la forte activation du récepteur NMDA, provoquerait l'activation de la protéine kinase dépendante de l'AMPc (PKA) et entraînerait la phosphorylation de l'inhibiteur 1 (I-1) (ou d'une protéine similaire) qui inhiberait alors la phosphatase 1 (PP1), responsable de l'inactivation de la CaMKII.

c/ La bidirectionnalité de la plasticité synaptique

Dans de nombreuses régions cérébrales, l'importance et la direction (polarité) des changements d'efficacité synaptique dépendent de la fréquence de la stimulation pré-synaptique (plasticité synaptique) et de « l'histoire » récente des synapses ou métaplasticité. L'hypothèse de la

métoplasticité a été proposée par Cooper (1979), qui postule que les synapses actives sont potentialisées lorsque la dépolarisation post-synaptique dépasse un seuil critique, appelé *seuil de modification* (ce seuil pouvant être sensible à l'histoire récente des synapses interrogées) ; et que ces mêmes synapses sont au contraire déprimées, lorsque la dépolarisation post-synaptique est inférieure au seuil de modification. La découverte de l'implication des récepteurs NMDA dans la formation de la PLT hippocampique a permis à Bear et coll., (1987) d'affiner cette première hypothèse en stipulant qu'une stimulation qui n'arriverait pas à activer les récepteurs NMDA au-delà d'un seuil nécessaire à l'induction d'une PLT induirait une DLT. A partir de ces hypothèses, les travaux réalisés au niveau hippocampique ont permis de mettre en évidence l'existence de telles synapses, appelées également synapses de Cooper, et il est maintenant bien établi que la variable post-synaptique critique est le niveau de dépolarisation (Bear et Abraham, 1996). Ainsi, au niveau hippocampique, il existe des synapses pour lesquelles une même stimulation téτανique peut induire soit une PLT soit une DLT (bidirectionnalité) en fonction du niveau d'activation post-synaptique (Dudek et Bear, 1992 ; Mulkey et Malenka, 1992 ; Bear et Abraham, 1996 ; Heynen et coll., 1996 ; Derrick et Martinez, 1996).

Ce phénomène de bidirectionnalité de la plasticité synaptique a également été mis en évidence au niveau cortical (Komatsu et coll., 1988 ; Berry et coll., 1989 ; Artola et coll., 1990). A titre d'exemple, Artola et coll., (1990) ont montré que les synapses actives du cortex visuel n'étaient pas modifiées si le niveau d'activation post-synaptique au cours d'une stimulation téτανique était faible ; ces synapses étaient déprimées si ce niveau d'activation était modéré, alors qu'elles étaient potentialisées si le niveau d'activation post-synaptique était élevé.

2/ Plasticité synaptique, apprentissage et mémoire

a/ Relation entre la plasticité synaptique, l'apprentissage et la mémoire

Une des différentes stratégies utilisées pour établir une relation entre les phénomènes d'apprentissage et de mémoire d'une part, et les modifications de plasticité synaptique de type PLT ou DLT d'autre part, est l'approche électrophysiologique par enregistrement des potentiels de champ dans une structure, impliquée dans une tâche spécifique, à la suite de la stimulation d'une voie glutamatergique afférente à la structure. Lors des premières études, cette approche a permis de montrer des modifications de la composante cellulaire (potentiels d'action) des réponses évoquées au niveau du gyrus dentelé lors de l'acquisition de différentes tâches de conditionnement (Buzsaki

et coll., 1981 ; Ruthrich et coll., 1982 ; Skelton et coll., 1987 ; Weisz et coll., 1984). Cependant, ces études n'ont pas pu mettre en évidence d'augmentation de la composante synaptique des potentiels évoqués (potentiels post-synaptiques excitateurs : PPSE) comme cela avait été observé dans les premières études non comportementales (Bliss et Gardner-Medwin, 1973). Toutefois, des études ultérieures basées sur l'apprentissage spatial dans un labyrinthe radial (Mitsuno et coll., 1994 ; Ishihara et coll., 1997) ou sur l'apprentissage d'un conditionnement aversif (Doyère et coll., 1993) ont finalement permis d'observer des augmentations de l'amplitude des PPSE dans le CA3 et le gyrus dentelé hippocampique, respectivement. Dans le cadre des travaux de Mitsuno et coll., cette PLT comportementale était maximale trois jours après l'apprentissage, ce qui semble montrer que les modifications synaptiques observées ne sont pas liées à une variation transitoire de la capacité de stockage, mais bien au stockage à long terme des informations nouvellement acquises. De nombreux travaux, couplant l'approche électrophysiologique des potentiels de champ à différentes approches comportementales (tâches mnésiques), ont également pu mettre en évidence l'existence d'une relation étroite entre la plasticité synaptique et l'apprentissage et la mémoire au niveau d'autres structures cérébrales (Baranyi et Feher, 1981a,b,c,d ; Roman et coll., 1987 ; Iriki et coll., 1989 ; Baranyi et coll., 1991 ; Iriki et coll., 1991 ; Roman et coll., 1993 ; Kirkwood et coll., 1993 ; Garcia et coll., 1993 ; Kirkwood et Bear, 1994 ; Jaffard et coll., 1996).

Enfin, il est également important de noter l'existence d'autres stratégies de recherche concernant la relation plasticité synaptique / apprentissage et mémoire avec notamment l'approche pharmacologique, qui consiste à administrer par voie périphérique ou intracérébrale différentes drogues dans le but de bloquer ou d'activer certains composants moléculaires impliqués dans les phénomènes de plasticité synaptique. A titre d'exemple, nous pouvons citer les travaux récents de Rodrigues et coll., (2002) qui ont mis en évidence que l'injection d'un inhibiteur spécifique des récepteurs métabotropiques de type 5 (mGLUR5) au niveau du noyau latéral amygdalien bloque l'acquisition d'un conditionnement aversif mais reste sans effet sur l'expression et la consolidation de celui-ci. Enfin, l'approche génétique, qui permet l'étude comportementale et physiologique de souris déficientes pour des protéines spécifiquement impliquées dans les phénomènes de plasticité synaptique (voir pour revue Chen et Tonegawa, 1997)

b/ Plasticité synaptique associée à l'acquisition de la peur conditionnée

Les études électrophysiologiques se sont pour la plupart basées sur les données neuroanatomiques et lésionnelles suggérant que le noyau latéral de l'amygdale constitue la porte

d'entrée des informations sensorielles en provenance du thalamus. En plaçant les électrodes de stimulation et d'enregistrement, respectivement dans le thalamus sensoriel et le noyau latéral de l'amygdale, il a été montré que la voie thalamo-amygdalienne présente le phénomène de PLT (Clugnet et LeDoux, 1990 ; Rogan et LeDoux, 1995). Cependant, la preuve d'une potentialisation thalamo-amygdalienne comportementale, c'est-à-dire en relation avec l'acquisition de la peur, fut apportée par les travaux ultérieurs de Rogan et coll., (1997) et McKernan et Shinnick-Gallagher (1997). Les premiers auteurs montrent que le conditionnement aversif provoque une potentialisation durable des réponses évoquées sensorielles dans l'amygdale (Rogan et coll., 1997), tandis que McKernan et Shinnick-Gallagher (1997) notent, par utilisation de la technique du patch-clamp en voltage imposé, que le conditionnement de la peur induit une forte augmentation du courant synaptique thalamo-amygdalien évoqué, ce qui traduit une potentialisation de l'excitabilité synaptique thalamo-amygdalienne.

c/ Plasticité synaptique associée à l'inhibition du conditionnement aversif

Les études sur la plasticité synaptique relative à l'inhibition de la peur apprise ont eu pour cible majeure le septum latéral. Les travaux entrepris dans ce domaine montrent que la potentialisation artificielle (Vouimba et coll., 1998, 1999) ou naturelle (Urban et coll., 1995) de la transmission des synapses excitables du septum latéral est associée à l'inhibition de la peur apprise. Ces données sont en accord avec les études (i) qui indiquent, d'une part, que la peur apprise s'accompagne d'une baisse d'excitabilité septale (Thomas et coll., 1991 ; Urban et coll., 1995 ; Garcia et Jaffard, 1996 ; Garcia et coll., 1997 ; Desmedt et coll., 1998 ; Vouimba et coll., 1998, 1999), et d'autre part, que les lésions du septum latéral (Sparks et LeDoux, 1995 ; Vouimba et coll., 1998) potentialisent la peur apprise, et (ii) qui suggèrent que l'inhibition de la peur apprise s'associe à une augmentation d'excitabilité septale (Vouimba et coll., 1999).

Partant de constatations similaires qui mettent en évidence d'une part, que la peur apprise s'accompagne d'une baisse d'excitabilité dans le cortex préfrontal (Bremner et coll., 1999a ; Garcia et coll., 1999), et d'autre part, que les lésions de cette structure potentialisent la peur apprise (Morgan et LeDoux, 1995 ; Vouimba et coll., 2000), *il est également envisageable que l'inhibition de la peur apprise s'associe à une augmentation d'excitabilité préfrontale. Par ailleurs, sachant que le cortex préfrontal médian (CPFm) joue un rôle clé dans l'inhibition du phénomène de persévération (Fuster, 1989 ; Hauser, 1999), l'analyse de la contribution des changements*

d'efficacité synaptique du CPFm dans l'inhibition de la peur apprise mérite, par conséquent, une attention particulière.

D/ Le cortex préfrontal médian

1/ Considérations anatomiques

a/ Caractérisations anatomiques

Le CPF peut être caractérisé de trois façons différentes : d'un point de vue cytoarchitectonique, de par ses connexions avec le noyau médio-dorsal du thalamus (MD) et également de par son innervation dopaminergique.

- Caractérisation cytoarchitectonique

En 1909, Brodmann caractérise la « regio frontalis » au niveau des lobes frontaux sur la base de ses études cytoarchitectoniques du cerveau humain. Il la définit comme étant la zone cérébrale antérieure qui présente une couche granulaire IV par opposition aux aires plus postérieures qui n'en possèdent pas (aires motrices et prémotrices, dites aires agranulaires). Ainsi, au sein de ce cortex frontal granulaire, Brodmann identifie différentes structures et exclut le cortex cingulaire antérieur et le cortex limbique étant donné que ces régions ne possèdent pas de couche granulaire. Des études ultérieures (Barbas et Pandya, 1989) ont mis en évidence que certaines aires retenues par Brodmann ne présentaient pas de couches granulaires évidentes et il apparaît donc qu'une définition cytoarchitectonique ne représente pas un critère univoque permettant de délimiter le CPF des autres régions corticales (comme l'aire prémotrice et le cortex cingulaire), que ce soit chez les primates ou chez d'autres mammifères (Uylings et VanEden, 1990). D'autre part, l'utilisation de ces critères cytoarchitectoniques pour définir le CPF empêche la définition de structures analogues chez le rongeur dont la partie frontale est agranulaire.

- Caractérisation hodologique

Le CPF peut être défini par la nature de ses afférences et efférences (définition hodologique¹). Ainsi les projections du MD permettent de définir et d'identifier le CPF. Rose et Woolsey en 1948 ont décrit pour la première fois les projections spécifiques du MD sur les lobes frontaux en suggérant que cette projection pourrait permettre l'identification de régions corticales homologues chez différentes espèces animales. Des études ultérieures utilisant de nouvelles techniques de marquage neuroanatomique ont permis de distinguer et de décrire différents noyaux thalamiques projetant sur différentes aires du cortex frontal chez le singe (Akert, 1964 ; Goldman-Rakic et Porrino, 1985 ; Barbas, 1988), le rat (Leonard, 1969 ; Krettek et Price, 1977 ; Groenewegen, 1988 ; Ray et Price, 1992) et la souris (Guldin et coll., 1981). Cependant, il apparaît également que ce critère pour la détermination du CPF n'est pas univoque étant donné que les aires frontales corticales qui reçoivent les projections du MD reçoivent également celles de la partie antérieure du complexe ventral thalamique (Condé et coll., 1990, Barbas et coll., 1991). De plus, les projections du MD touchent également les aires motrices et prémotrices (Goldman-Rakic et Porrino, 1985 ; Ilinsky et coll., 1985) ainsi que l'aire cingulaire antérieure (Vogt et coll., 1979, 1987, Barbas et coll., 1991). En fait, il a été suggéré que le CPF pouvait être considéré comme la partie des lobes frontaux possédant les connexions réciproques les plus importantes avec le MD (Uylings et VanEden, 1990).

- Caractérisation dopaminergique

Le CPF reçoit des projections dopaminergiques en provenance de l'aire tegmentale ventrale (ATV) (Thierry et coll., 1973 ; Beckstead, 1976). Chez le rongeur, cette innervation semble être la plus importante au niveau du CPF (Berger et coll., 1991). Par ailleurs, cette innervation dopaminergique ne semble pas restrictive au CPF notamment chez le singe, où les fibres dopaminergiques de l'ATV touchent également les aires motrices et prémotrices (Berger et coll., 1988, 1991 ; Gaspar et coll., 1992). Cependant, chez le rongeur, cette innervation semble être la plus importante au niveau du CPF (Berger et al, 1991).

b/ Anatomie du CPF chez le rongeur

Le CPF du rongeur se décompose en trois régions distinctes (**Figure I-2**) :

¹ Une définition hodologique est une caractérisation d'une aire corticale particulière de par la position qu'elle occupe au sein du système nerveux central ou plus précisément par la nature de ses afférences et efférences.

- Le cortex préfrontal médian (CPFm), qui est constitué du cortex précentral médian, du cortex cingulaire antérieur dorsal et ventral, du cortex prélimbique et du cortex infralimbique.
- Le cortex préfrontal orbitaire (CPFo), qui est constitué du cortex médio-orbitaire, du cortex ventro-orbitaire, du cortex ventro-latéro-orbitaire et du cortex latéro-orbitaire.
- Le cortex préfrontal latéral (CPFlat), qui comprend le cortex agrulaire insulaire ventral et le cortex agrulaire insulaire dorsal.

L'implication du CPF dans l'inhibition de la peur apprise ne concernant que le CPFm (Morgan et LeDoux, 1995, 1999), nous n'aborderons pas au cours de cette description anatomique les connexions principales du CPFo et du CPFlat. Pour plus de précisions concernant ces structures, nous renverrons le lecteur vers les travaux de Krettek et Price (1977), Groenewegen (1988) et de Reep et coll., (1996).

- Connexions thalamo-corticales

Groenewegen en 1988, distingue au sein du MD 4 segments différents projetant sur différentes parties du CPFm (**Figure I-3**) : le segment médian qui projette à la fois sur le cortex prélimbique et le cortex infralimbique ; le segment central projetant sur le cortex préfrontal orbito-latéral (aires insulaires agrulaires dorsales et ventrales) ; le segment latéral dont les projections ciblent à la fois le cortex prélimbique et le cortex cingulaire antérieur dorsal et enfin le segment paralamellaire qui envoie des fibres sur le cortex préfrontal précentral (pour plus de détails sur les connexions thalamo-corticales, voir Uylings et Van Eden, 1990). Ces projections thalamiques sont pour la plupart ipsilatérales et se terminent sur les couches cellulaires I et III du CPFm (Krettek et Price, 1977 ; Groenewegen, 1988 ; Minciacchi et Granato, 1989 ; Kuroda et coll., 1998). Le CPFm, à son tour, envoie des fibres dans le MD, selon une organisation topographique qui ne sera pas évoquée ici, à partir des couches cellulaires V et VI (Groenewegen, 1988 ; Kuroda et coll., 1998 ; Tanemichi et coll., 2001).

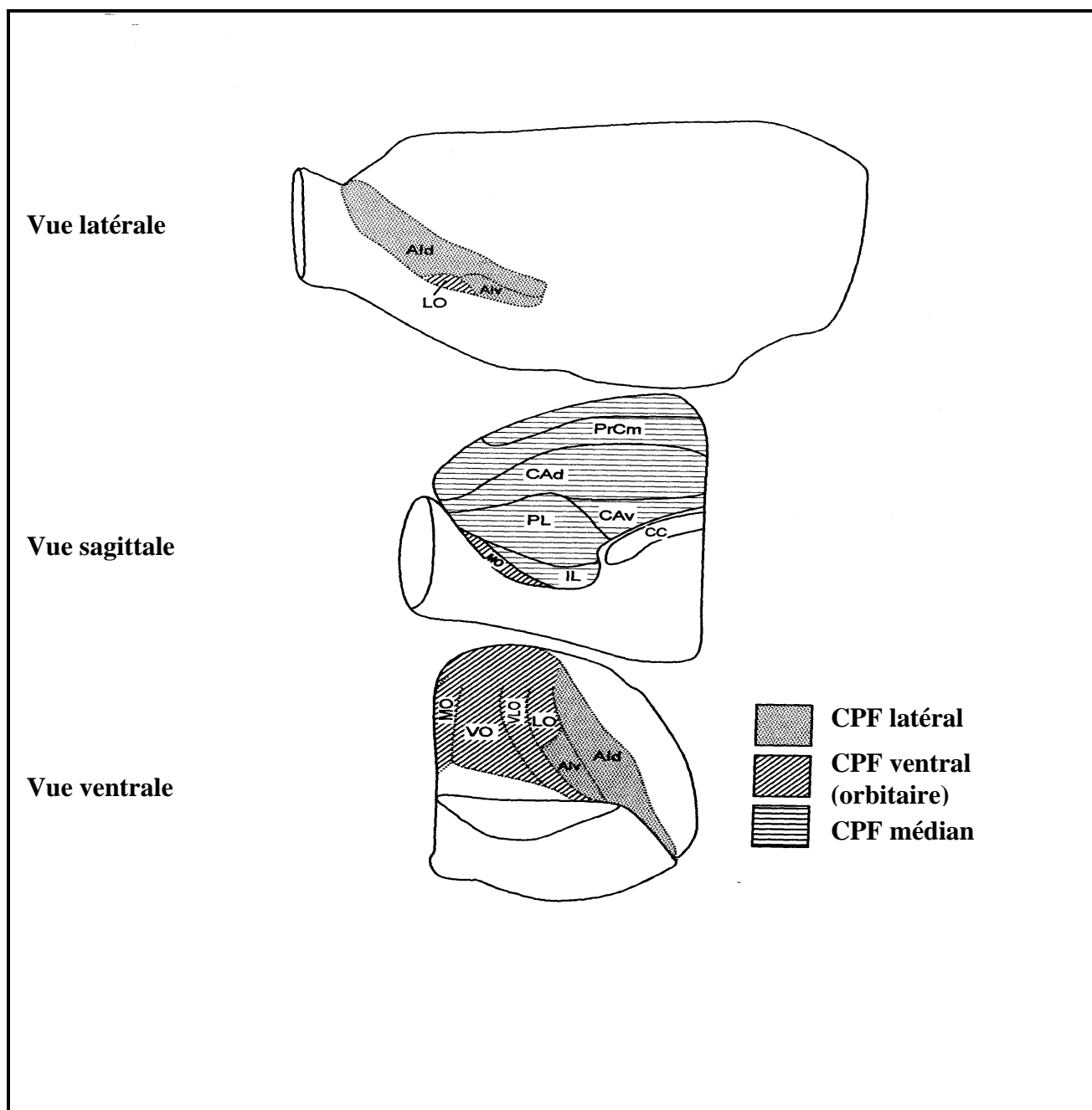


Figure I-2 : Schéma illustrant les différentes divisions du CPF de rat. CC : corps calleux ; SR : scissure rhinale ; Aid, v : cortex agranulaire insulaire dorsal et ventral ; LO : cortex latéro-orbitaire ; PrCm : cortex précentral médian ; CA_d, v : cortex cingulaire antérieur dorsal et ventral ; PL : cortex prélimbique ; IL : cortex infralimbique ; MO : cortex médio-orbitaire ; VO : cortex ventro-orbitaire ; VLO : cortex ventro-latéro-orbitaire. D'après Uylings et Van Eden (1990).

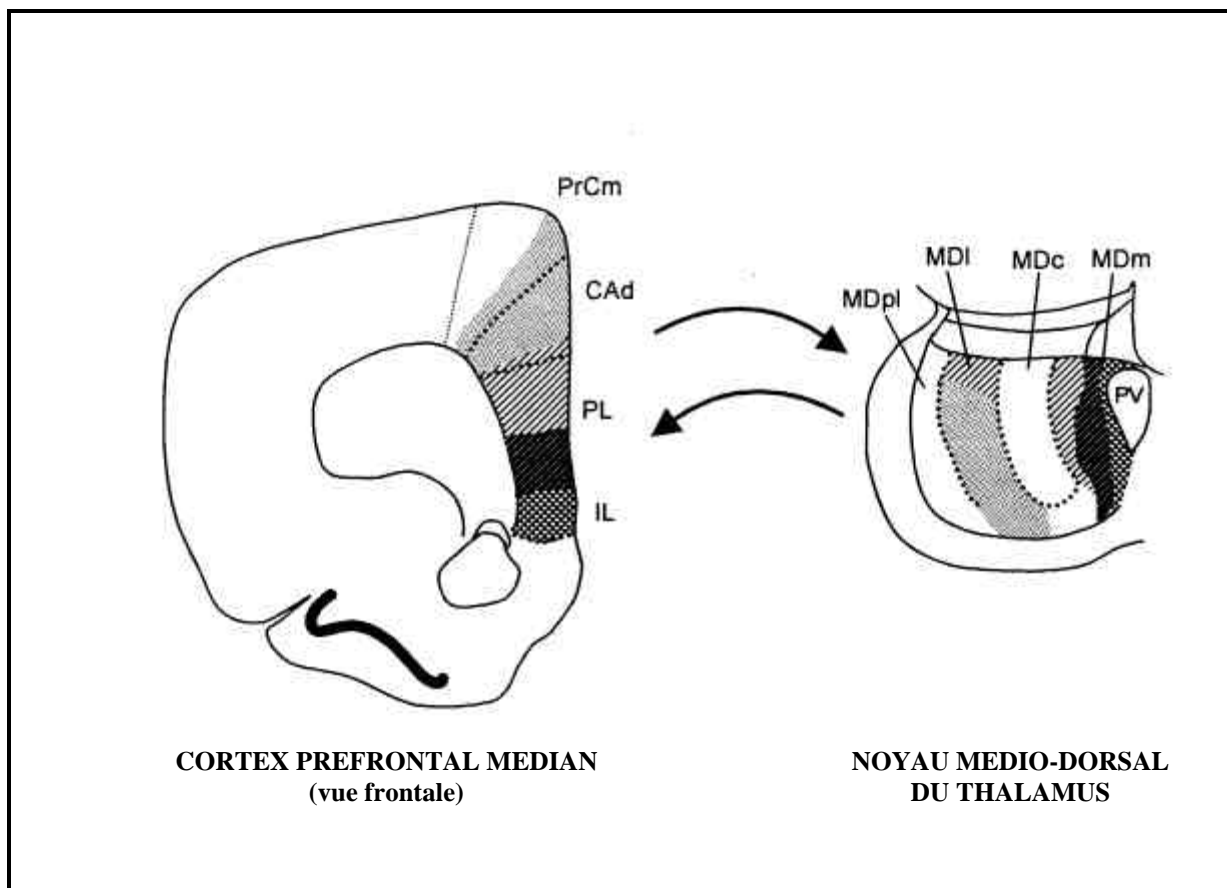


Figure I-3 : Schéma illustrant l'organisation topographique des projections du noyau thalamique médio-dorsal sur le CPFm du rat. MDpl : noyau médio-dorsal (partie paralamellaire) ; MDI : noyau médio-dorsal (partie latérale) ; MDc : noyau médio-dorsal (partie centrale) ; MDm : noyau médio-dorsal (partie médiane) ; PV : noyau paraventriculaire. Pour la nomenclature du CPFm se référer à la **Figure I-2**. D'après Groenewegen et Berendse (1994).

- Connexions intrinsèques du CPFm

Les travaux de Beckstead (1979) et plus tardivement de Sesack et coll., (1989) ont mis en évidence l'existence de connexions intrinsèques au niveau du CPFm. Ainsi, le cortex prélimbique projette sur le cortex cingulaire antérieur dorsal, le cortex infralimbique projette à la fois sur le cortex agranulaire insulaire (cortex préfrontal latéral) (Takagishi et Chiba, 1991), le cortex prélimbique et le cortex cingulaire antérieur dorsal. Par ailleurs, on sait depuis les travaux de Audinat et coll., (1988) que certains neurones du CPFm envoient des collatérales récurrentes vers le cortex homotypique ipsilatéral ou contralatéral. Ces dernières données ont été confirmées sur le plan électrophysiologique par les travaux de Pirot et Coll, (1994).

- Connexions afférentes et efférentes du CPFm

Outre les afférences thalamiques en provenance du MD, le CPFm reçoit des projections de nombreuses structures sous corticales et notamment dopaminergiques à partir de l'ATV (Thierry et coll., 1973). De plus, il reçoit des projections en provenance de l'amygdale (Krettek et Price, 1977 ; McDonald, 1987, 1991 ; Shinonaga et coll., 1994) et de l'hippocampe (Swanson, 1981 ; Jay et coll., 1989). A titre d'exemple, nous pouvons citer les projections glutamatergiques hippocampiques (CA1 et subiculum) (Swanson, 1981 ; Jay et coll., 1989) qui se terminent au niveau des mêmes couches cellulaires que les projections thalamiques (Gigg et coll., 1992), ainsi que les projections amygdaliennes décrites notamment par McDonald (1987, 1991) avec en particulier des projections du noyau basolatéral amygdalien (BLA) sur le cortex prélimbique. Par ailleurs, le CPFm reçoit également des projections corticales. Ainsi, les cortex prélimbique et infralimbique sont connectés avec les cortex paralimbiques (cortex entorhinal et perirhinal), alors que les parties plus dorsales du CPFm (cortex précentral médian et cortex cingulaire antérieur dorsal) reçoivent des projections des cortex somatosensoriels et moteurs.

En retour, le CPFm projette sur certaines structures sous corticales telles que le MD (Krettek et Price, 1977 ; Groenewegen, 1988), l'hippocampe (Sesack et coll., 1989), l'amygdale (Sesack et coll., 1989 ; Takagishi et Chiba, 1991 ; McDonald et coll., 1996), et les ganglions de la base (Gerfen, 1989 ; Sesack et coll., 1989 ; Groenewegen et coll., 1990 ; Berendse et col, 1992 ; Groenewegen et Berendse, 1994), au niveau desquels le CPFm participe à différentes boucles cortico-striato-pallido-thalamo-corticales (Groenewegen, 1997), ainsi que sur des structures corticales comme le cortex pariétal.

2/ Considérations fonctionnelles

La caractérisation fonctionnelle du cortex préfrontal est rendue difficile par l'existence de ses multiples connexions avec presque l'ensemble du cerveau (Fuster, 1989). Les travaux réalisés au début du siècle dernier suggéraient déjà l'implication du cortex préfrontal dans des fonctions cognitives comme l'apprentissage, la mémoire, l'attention, la personnalité et l'intelligence. Malgré d'énormes progrès réalisés dans les domaines de la neurobiologie, de la neurologie et de la psychologie, la définition des fonctions des différentes parties du cortex préfrontal reste encore imprécise. Certains auteurs proposent que la fonction générale du cortex préfrontal est d'assurer l'organisation temporelle des comportements (par exemple : Fuster, 1989) ou l'adaptation

comportementale en fonction des contraintes internes ou externes (par exemple : Everitt et Robbins, 1992).

L'organisation temporelle des comportements implique elle-même deux fonctions qui sont étroitement liées : la fonction rétrospective (mémoire sensorielle à court terme) et la fonction prospective (préparation motrice). On note par exemple que les patients préfrontaux présentent une grande distractibilité, caractérisant un dysfonctionnement dans les mécanismes de maintien des informations pertinentes pour atteindre un but (perturbation de la fonction rétrospective nécessaire à la mémoire de travail ; Duncan et coll., 1996). On note aussi que ces patients ont d'énormes difficultés à organiser leur vie (perturbation de la fonction prospective préfrontale ; Fuster, 1989).

Récemment, Miller (2000) a suggéré que le cortex préfrontal jouerait un rôle capital dans la flexibilité comportementale, notamment par sa participation dynamique à l'établissement de réseaux de neurones extra-préfrontaux adaptés aux contraintes présentes et futures. La perte de cette fonction pourrait conduire au phénomène de persévération, c'est-à-dire une incapacité à inhiber des réponses apprises dont l'expression devient inadaptée à la situation courante (Milner, 1963).

Les travaux effectués chez l'animal ont permis d'identifier le phénomène de persévération avec des tâches non aversives (Kolb et coll., 1974 ; Eichenbaum et coll., 1983 ; Brennan et coll., 1990 ; Collins et coll., 1998 ; Gemmell et O'Mara, 1999). Cependant, des études réalisées par le groupe de LeDoux chez le rat ont permis d'étendre cette notion dans le domaine de l'inhibition de la peur apprise. En effet, ces auteurs observent que les lésions du CPFm (parties infralimbique et prélimbique) entraînent une résistance à l'extinction (Morgan et coll., 1993 ; Morgan et LeDoux, 1995). Ces auteurs qualifient ce phénomène de *persévération émotionnelle*.

3/ Plasticité synaptique préfrontale

La plasticité synaptique préfrontale a été largement étudiée chez le rat au cours de ces douze dernières années. Les premières études - réalisées sur tranches - indiquent que les synapses glutamatergiques se situant entre les couches I-II et la couche V présentent une PLT ou une DLT suite à la stimulation téτανique des fibres des couches I-II (Hirsch et Crepel, 1990). Des études, réalisées chez le rat anesthésié, confirment l'existence de la plasticité des synapses glutamatergiques préfrontales en montrant que la voie hippocampo-CPFm présente également le phénomène de PLT (Laroche et coll., 1990 ; Jay et coll., 1995) ou de DLT (Takita et coll., 1999) après des stimulations appropriées de l'hippocampe ventral. L'analyse de la neuromodulation de cette plasticité indique que la dopamine facilite le développement de la DLT préfrontale sur des

préparations in vitro (Law-Tho et coll., 1995 ; Otani et coll., 1998, 1999), alors qu'elle facilite, au contraire, la PLT préfrontale chez l'animal anesthésié (Gurden et coll., 1999, 2000). Toutefois, il semble que la direction de la plasticité préfrontale (PLT ou DLT), suite au même traitement (stimulation tétranique), soit dépendante de la durée d'activation du système dopaminergique (une activation durable favorise la PLT, alors qu'une activation brève favorise la DLT) (Otani, 2001 ; Blond et coll., 2002).

La persévération émotionnelle (c'est-à-dire la résistance à l'extinction de la peur apprise) et son inverse (le maintien de l'extinction) peuvent être associés à ces directions spécifiques de plasticité des synapses du CPFm.

E/ Objectifs du travail

L'ensemble des données présentées ci-dessus suggère que *la persévération émotionnelle (c'est-à-dire la résistance à l'extinction de la peur apprise) et son inverse (le maintien de l'extinction) sont associés à des directions opposées de plasticité des synapses du CPFm.* Au cours de ce travail, nous nous sommes intéressés à cette hypothèse en étudiant la plasticité synaptique préfrontale chez la souris éveillée et libre de ses mouvements tout d'abord induite de façon artificielle puis au cours de l'extinction de la peur apprise. Nous avons ensuite analysé si la plasticité synaptique préfrontale a un effet modulateur sur l'extinction de la peur apprise. Enfin, l'approche immunohistochemique nous a permis de suivre l'évolution préfrontale de l'expression de certains gènes précoces au cours de l'extinction et de son maintien.

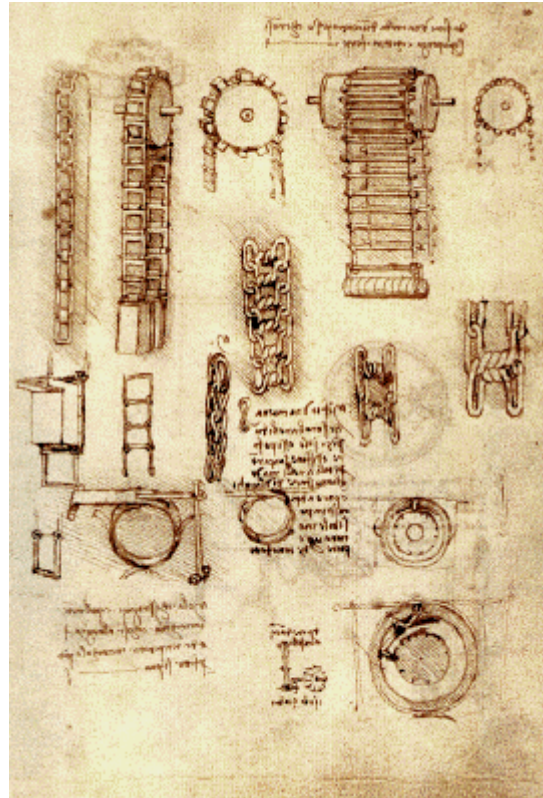
Premier objectif : il concerne plus précisément l'évaluation de la plasticité synaptique induite artificiellement dans le CPFm (facilitation, PLT et DLT) suite aux stimulations électriques appropriées du MD (double choc, stimulation tétranique et stimulation à basse fréquence). Le choix de cette voie est double car son étude permet d'analyser simultanément la plasticité synaptique prenant place dans une afférence préfrontale et celle qui se développe dans les synapses préfronto-préfrontales (Pirrot et coll., 1994). En effet, la stimulation du MD touche également les fibres efférentes du CPFm qui de façon antidromique conduisent l'influx nerveux généré par la stimulation jusqu'au niveau de collatérales à terminaisons préfrontales.

Deuxième objectif : il consiste à déterminer si l'apprentissage de l'extinction, qui implique des processus cognitifs (la connaissance du fait que le SC ne sera plus renforcé), s'accompagne

d'une plasticité spécifique de la transmission synaptique préfrontale. Cette idée découle d'observations cliniques (Bremner et coll., 1999a, b) et de celles de l'expérimentation animale (Garcia et coll., 1999) qui indiquent que l'activité neuronale du CPFm baisse en présence d'un SC traumatique. Si cette dépression reflète le codage de la forte probabilité de renforcement du SC (Garcia et coll., 1999), une plasticité synaptique spécifique à l'absence de ce renforcement pourrait alors se développer au cours de l'extinction.

Troisième objectif : la mise en évidence d'une plasticité particulière associée à l'extinction de la peur apprise soulève la question de son importance dans la modulation de l'extinction. Le troisième objectif vise donc à manipuler artificiellement le niveau d'excitabilité synaptique préfrontale (induction de PLT et de DLT) avant et au cours des différentes séances d'extinction, dans le but de mieux comprendre le rôle de ces variations d'efficacité synaptique préfrontale dans le phénomène d'extinction de la peur apprise (son maintien à long terme ou son abolition). Cette partie explore aussi si la persévération émotionnelle naturelle s'associe à une DLT naturelle, alors que le maintien naturel de l'extinction s'associe à une PLT naturelle dans le CPFm.

Quatrième objectif : nous savons que la rétention à long terme de certains types d'apprentissage se corrèle avec une expression génique (Davis et Squire, 1984). Par ailleurs, il a été montré que l'expression du c-fos était corrélée au niveau de stress, à l'apprentissage ainsi qu'à la consolidation mnésique (Sagar et coll., 1988 ; Anokhin et coll., 1991 ; Campeau et coll., 1991 ; Smith et coll., 1992 ; Pezzone et coll., 1992,1993 ; Mileusnic et coll., 1996 ; Swank et coll., 1996 ; Milanovic et coll., 1998 ; Radulovic et coll., 1998 ; Bontempi et coll., 1999), alors que celle du zif268 était plus spécifiquement corrélée aux modifications d'efficacité synaptique de type PLT (Cole et coll., 1989 ; Wisden et coll., 1990 ; Worley et coll., 1993) ainsi qu'à la récupération mnésique (Hall et coll., 2001). Ce dernier objectif s'intéresse, par conséquent, à l'étude de l'expression et de la localisation préfrontale de ces deux gènes précoces (c-fos et zif268) au cours des différentes phases de l'extinction (acquisition, rétention, consolidation).



Etude d'engrenages, Leonardo Da Vinci

II / METHODOLOGIE GENERALE

L'analyse des processus cérébraux sous-tendant certaines formes d'apprentissage et de mémoire peut être abordée au moyen d'une grande diversité d'approches neurobiologiques. Au cours de notre investigation sur l'implication du cortex préfrontal médian (CPFm) dans le phénomène d'extinction de la peur apprise, nous avons fait appel à deux types de ces approches : l'électrophysiologie et l'immunohistochimie.

Après avoir établi un modèle de base d'acquisition (renforcement systématique ou partiel) de la peur apprise et de son extinction (le choix de ces deux modèles d'apprentissage ayant été motivé par la rapidité de mise en place de ces tests, le taux de réussite souvent proche de 100 % et par la maîtrise de ces modèles au sein du laboratoire), nous avons effectué une série d'analyses électrophysiologiques basées principalement sur des enregistrements de potentiels évoqués. Cette technique a été choisie en raison de son efficacité dans la détermination des modifications plus ou moins durables de l'efficacité de certaines synapses glutamatergiques en relation avec les phénomènes d'apprentissage et de mémoire. De plus, cette technique apporte une résolution temporelle précise des phénomènes de plasticité synaptique intervenant au cours des apprentissages.

L'approche immunohistochimique (mettant en évidence l'activation de gènes précoces par l'utilisation d'anticorps anti-c-fos et anti-zif268) nous a permis d'évaluer le niveau d'activation des populations cellulaires concernées et de déterminer les autres structures cérébrales et les réseaux neuronaux potentiellement impliqués dans le phénomène d'extinction de la peur apprise.

A/ Sujets d'expérience

Toutes les expériences ont été réalisées sur des souris mâles consanguines¹, de la lignée C57 BL/6 JICO, provenant du centre d'élevage IFFA-CREDO (Lyon).

Lors de leur arrivée au laboratoire par lots homogènes de 20 sujets âgés de 8 semaines, les souris sont placées en cage collective avec nourriture et boisson *ad libitum*, dans une animalerie climatisée (22-23°C), éclairée en lumière artificielle de 7 h à 19 h (afin d'assurer un rythme « jour/nuit » de 12 h/12 h).

A l'âge de 4 mois, leur poids étant compris entre 25 et 30 g, elles sont placées en cages individuelles pour une période d'isolement d'une semaine au minimum.

¹ L'intérêt d'une lignée consanguine réside dans l'homogénéité inter-individuelle des repères anatomiques et des réactions comportementales.

B/ Analyses comportementales

1/ Conditionnement aversif indiciel

Le conditionnement aversif indiciel consiste en l'acquisition d'une association entre un stimulus conditionnel (SC, un son dans le cadre de nos études) et un stimulus inconditionnel (SI, généralement un choc électrique délivré aux pattes de l'animal). Le conditionnement peut être mesuré par le degré de la réponse conditionnelle (RC) évoquée par le SC (par exemple, la réponse émotionnelle conditionnée d'immobilisation : RECI, dans notre cas). La probabilité d'occurrence de la paire SC-SI est soit de 100 % (renforcement systématique, ce type de renforcement est largement utilisé dans nos expériences), ou bien de 50 % (renforcement partiel).

2/ Extinction et retour de la peur apprise

L'extinction de la peur apprise est un apprentissage post-conditionnel résultant de la présentation répétée du SC sans renforcement (absence du SI). L'extinction de la peur peut se produire soit en une séance unique, comportant un grand nombre de présentations du SC (apprentissage *massé*), soit en plusieurs séances (apprentissage *distribué*), comportant chacune un nombre faible de présentations du SC (Rowe et Craske, 1998). L'extinction se traduit, sur le plan comportemental, par une baisse de l'amplitude, voire une suppression, de la RC (Pavlov, 1927). Toutefois, dans ses travaux, Pavlov (1927) montre que la RC peut réapparaître de façon spontanée longtemps après l'extinction. Des études récentes réalisées chez l'homme indiquent que tous les individus ne présentent pas un retour systématique des RC (Tarrrier et coll., 1999). Dans nos études, l'analyse du maintien ou de la fragilité de l'extinction est réalisée par la représentation du SC² une semaine après la procédure d'extinction (défini comme le test de rétention de l'extinction).

² Au cours du conditionnement indiciel, l'animal se conditionne également au contexte expérimental (ensemble des éléments visuels, sonores, tactiles et olfactifs présents dans la pièce d'expérimentation : SC contextuel). Toutefois, lors de l'extinction, et du test de rétention de l'extinction, l'animal n'est pas réexposé au SC contextuel (seul le SC indiciel lui est représenté).

3/ Appareillage et déroulement des protocoles expérimentaux

a/ Appareillage

Pour une vue générale de la chambre expérimentale, voir **Figure I-1**

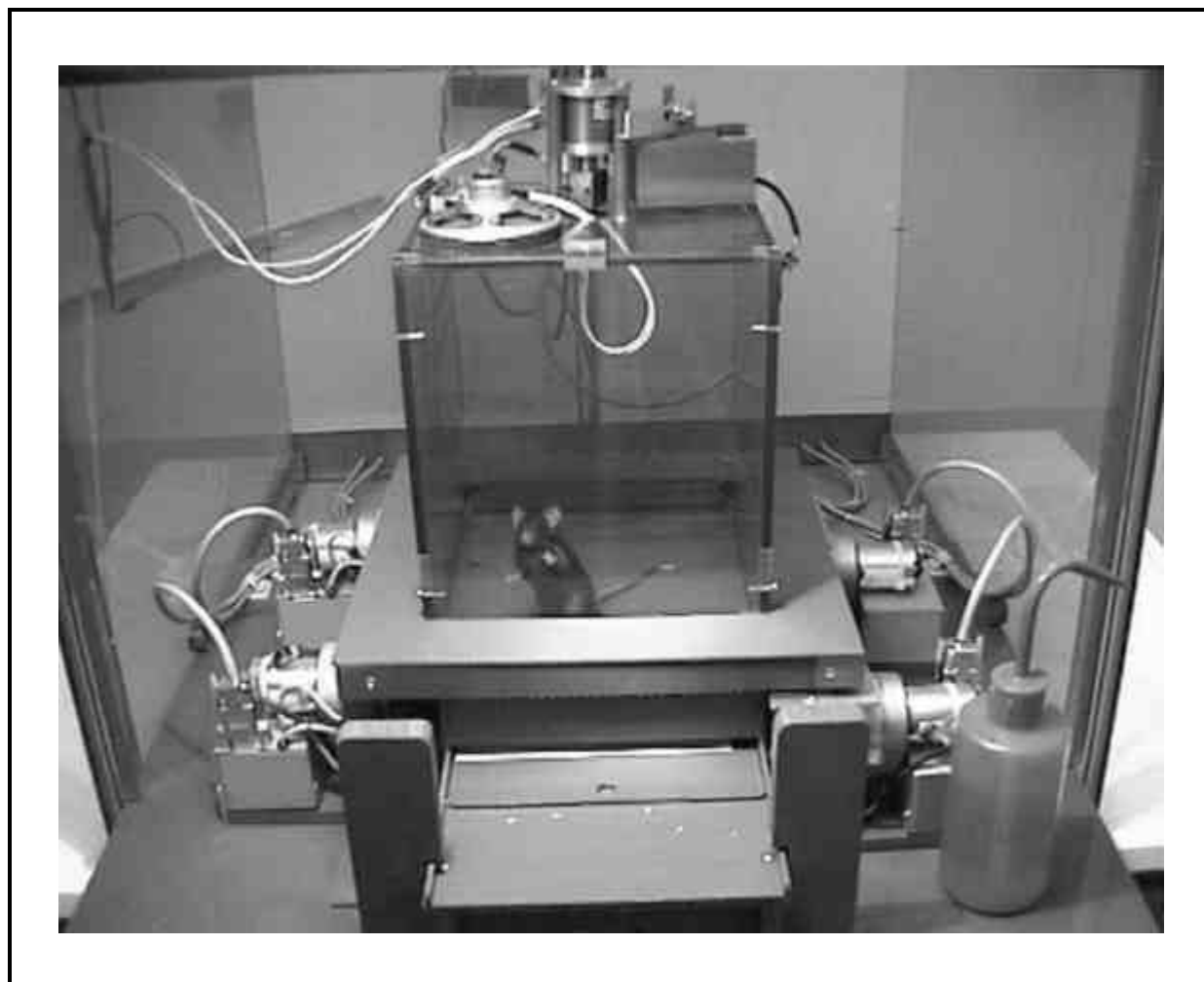


Figure I-1 : Photographie de la chambre expérimentale (ici la chambre est dans les conditions définies pour l'extinction et le test de rétention de l'extinction ; voir le texte pour plus de détails).

* Conditionnement aversif.

Le conditionnement aversif (avec renforcement systématique ou partiel) se déroule dans un contexte composé d'une cage carrée en Plexiglas (18 cm de côté x 23 cm de hauteur) insérée dans une enceinte d'isolation acoustique également transparente. Un cylindre gris en PVC (15,5 cm de

diamètre x 14 cm de hauteur) est placé verticalement sur le plancher de la cage carrée en Plexiglas. Ce plancher correspond à une grille composée de 30 barreaux parallèles (barreaux en acier inoxydable ; 2 mm de diamètre). Les parois du cylindre gris constituent les parois opaques de la chambre de conditionnement et la grille sert à délivrer les chocs à l'animal. L'ensemble de ce système est placé dans une pièce adjacente à la pièce de contrôle expérimental. Au niveau de l'enceinte d'isolation acoustique, un système d'aération fournit un fond sonore de 60 dB. Sur la partie supérieure du dispositif de conditionnement se trouve un haut-parleur permettant la délivrance d'un son (SC) de 2500 Hz et de 80 dB, ainsi qu'une mini-caméra reliée à un moniteur qui permet, depuis la pièce de contrôle expérimental, la visualisation du comportement de l'animal au cours de l'expérience. La grille (le plancher), connectée à un générateur de chocs et à un scrambler, permet la délivrance d'un choc électrique (SI) d'une intensité de 0,9 mA. Un ordinateur, disposé dans la pièce de contrôle expérimental et disposant d'un logiciel (logiciel IMETRONIC, Pessac, France), permet le contrôle de la séquence de conditionnement. Le dispositif de conditionnement comporte également un système de détection de la position de l'animal constitué de 32 capteurs infrarouges disposés sous la forme d'un carré à 1 cm du plancher. La base du cylindre gris est adaptée à l'enregistrement de l'activité de l'animal. Il est à noter que la cage carrée en Plexiglas comporte également au niveau des coins inférieurs quatre abreuvoirs disposés au niveau du plancher (ces abreuvoirs n'ont pas été utilisés au cours des expériences rapportées ici). Pour toutes les phases de conditionnement, la luminosité de la pièce est fournie par une petite lampe de bureau (40 lux). Le plancher (la grille) et les parois du cylindre gris sont nettoyés avant et après chaque passage de souris avec une solution d'éthanol à 70%.

* Extinction et test de rétention.

L'extinction de la peur apprise se déroule dans le même environnement que le contexte de conditionnement hormis la présence d'une plaque grise en PVC qui recouvre complètement la grille et le retrait du cylindre en PVC (l'animal a ainsi accès à un grand nombre d'indices visuels environnementaux ; voir **Figure I-1**). La luminosité au cours de toutes les phases d'extinction est maximum (80 lux) (illumination totale de la pièce). Le plancher en PVC ainsi que les parois de la cage carrée en Plexiglas sont nettoyés avant et après chaque passage de souris avec une solution d'acide acétique à 1 %. Le test de rétention de l'extinction se déroule dans les mêmes conditions que celles de la procédure d'extinction.

b/ Déroulement des protocoles expérimentaux

Les protocoles comportementaux utilisés étant sensiblement différents suivant l'expérience réalisée, ils sont, par conséquent, décrits en détail dans les chapitres concernés. Toutefois, certaines étapes sont communes à tous les protocoles.

* *Habituation* : pendant les trois jours précédant la phase de conditionnement, les animaux sont manipulés, pesés et placés pendant 5 minutes dans le contexte d'extinction qu'ils explorent librement. Cette partie de l'expérimentation est primordiale car elle permet à l'animal de se familiariser au contexte et évite ainsi toute tendance à l'exploration lors des tests ultérieurs (extinction et test de rétention). En effet, si les animaux n'explorent pas initialement ce contexte, l'exploration au cours de l'extinction peut fausser la mesure de l'expression de la peur qui se base uniquement (dans notre cas) sur l'immobilité de l'animal (RECI ou « freezing » en anglais) lors de la présentation du SC seul. Dans le cas des expériences immunohistochimiques, (Chapitre VI), les animaux "contrôles cages" sont simplement manipulés par l'expérimentateur pendant une période de 3 jours.

* *Acquisition* : après la phase d'habituation, chaque animal est soumis à la phase de conditionnement au cours de laquelle un certain nombre du couple SC-SI (SC : son ; SI : choc électrique) lui est présenté. L'intervalle entre les présentations successives peut varier de 20 à 80 secondes suivant les protocoles. Avant la première présentation du couple SC-SI, les animaux peuvent explorer librement le contexte de conditionnement pendant une période pouvant aller de 1 à 2 minutes en fonction des protocoles utilisés. Après la présentation du dernier couple SC-SI, les animaux demeurent pendant 30 secondes dans le contexte de conditionnement puis sont replacés dans leurs cages d'élevage à l'animalerie. L'acquisition peut se dérouler sur 1 ou 2 jours. La RECI est mesurée pendant la période précédant la première association SC-SI (RECI basale), puis au cours de chaque présentation du SC. Elle est exprimée en pourcentage du temps d'immobilisation de l'animal sur la durée totale d'exposition au SC.

* *Extinction et test de rétention* : cinq ou vingt-quatre heures après le conditionnement, les animaux sont placés dans le contexte d'extinction. Après une période variable (de 1 à 10 minutes) où aucun stimulus n'est présenté, la séance d'extinction commence avec la présentation du SC sans renforcement. Suivant les protocoles utilisés, les animaux sont exposés à

un nombre de présentations du SC par séance compris entre 4 et 25 sons, avec un intervalle de 20-180 secondes entre les présentations. Trente secondes après la dernière présentation du SC, les animaux sont replacés dans leurs cages d'élevage qui sont alors transférées dans l'animalerie. Le protocole d'extinction peut se dérouler sur une période allant de 2 à 4 jours. La RECI est mesurée de la même façon que lors de la phase d'acquisition. Pour certaines expériences, un test de rétention de l'extinction de la peur apprise est effectué une semaine après la dernière séance d'extinction. Ce test consiste à présenter 4 fois le SC seul (avec un intervalle compris entre 20 et 180 secondes) dans le contexte d'extinction. Lors du test, la première présentation du SC est faite après une période de 90 secondes et l'animal est ensuite replacé dans sa cage d'élevage 30 secondes après la dernière présentation du SC. La RECI est mesurée de la même façon que pour les autres phases.

C/ Techniques électrophysiologiques

1/ Implantation

Les animaux destinés aux tests électrophysiologiques sont implantés sous anesthésie générale obtenue par injection intrapéritonéale d'avertine [fabriquée à partir d'une solution mère de 1,25 ml d'avertine (100 mg de tribromoéthanol dissout dans 62 ml d'alcool amyl tertiaire) ajoutée à 5 ml d'alcool absolu et 62.5 ml de solution saline ; 10 ml/kg, i.p)]. L'animal anesthésié est ensuite fixé sur un appareil stéréotaxique (Narishige, Japon) dont les barres d'oreilles et d'incisives sont préalablement réglées au même niveau. Après rasage du crâne, l'os crânien est mis en évidence par une incision de la peau, puis trépané selon les coordonnées stéréotaxiques de chaque structure (Franklin et Paxinos, 1996). Les électrodes de stimulation et d'enregistrement sont composées de deux fils de platine-iridium (90 % et 10 %) de 90 µm de diamètre, isolés (excepté aux extrémités), torsadés ensemble et séparés (90 µm) horizontalement pour l'électrode de stimulation (ce qui permet la stimulation d'un grand nombre de cellules et de fibres) et verticalement pour l'électrode d'enregistrement (ce qui permet l'enregistrement à deux profondeurs distinctes). Une électrode de référence, constituée d'un fil d'argent, est maintenue au contact de la surface crânienne par une vis. Les électrodes de stimulation et d'enregistrement sont descendues verticalement dans les structures situées du même côté (hémisphère gauche) selon les coordonnées du thalamus médiodorsal (MD : 0,8 mm en arrière du Bregma ; 0,3 mm de latéralité ; 4-4,5 mm de profondeur, à partir de l'os crânien), et du cortex préfrontal médian (CPFm : 2,4 mm en avant du Bregma ; 0,4 mm de latéralité ; 1,4-1,6 mm de profondeur, à partir de l'os crânien). Les profondeurs définitives des

électrodes dans les structures sont déterminées en fonction de la qualité des réponses recueillies. Les électrodes sont maintenues dans les sites de stimulation et d'enregistrement à l'aide de ciment dentaire, formant ainsi la têtère. L'animal demeure dans la pièce d'opération chauffée à 25°C jusqu'à son réveil. Il est alors remis à l'animalerie pour une période de récupération de 5 jours minimum.

2/ Stimulation et enregistrement

Les potentiels de champ évoqués dans le CPFm par la stimulation du MD (deux impulsions rectangulaires de phase opposée et de 0,2 ms ; stimulateur Neurolog) sont amplifiés (gain = 1000), filtrés (bandes passantes : 1-1000 Hz ; A-M Systems), visualisés sur un oscilloscope, puis enregistrés à l'aide d'un micro-ordinateur (logiciel pClamp 6 ; Axon Instruments) en vue d'une analyse ultérieure. Cinq à sept réponses électrophysiologiques sont recueillies à la fréquence de 0.2 Hz par séance d'enregistrement, l'intensité de la stimulation étant constante. Cette intensité est déterminée pour chaque animal, de telle sorte que la réponse électrophysiologique évoquée représente approximativement 80 % de l'amplitude maximale obtenue à partir des courbes "entrée/sortie" (gamme : 60 – 600 μ A) dont l'étude a été réalisée auparavant. Les électrodes d'enregistrement sont connectées à des amplificateurs opérationnels³ à entrée JFET (Transistor à Effet de Champ à Jonctions : **Figure I-2**) placés sur la tête de l'animal. L'ensemble (y compris l'électrode de stimulation) est relié à une chaîne électrophysiologique par l'intermédiaire d'un connecteur tournant (**Figure I-3**).

³ Les amplificateurs opérationnels sont des composants électroniques se présentant sous la forme d'un circuit intégré à 8 ou 14 broches, contenant un certain nombre de transistors. Dans notre cas, ces composants sont essentiellement utilisés pour limiter la distorsion du signal liée à la torsion des câbles lorsque les enregistrements sont effectués chez l'animal libre de ses mouvements.

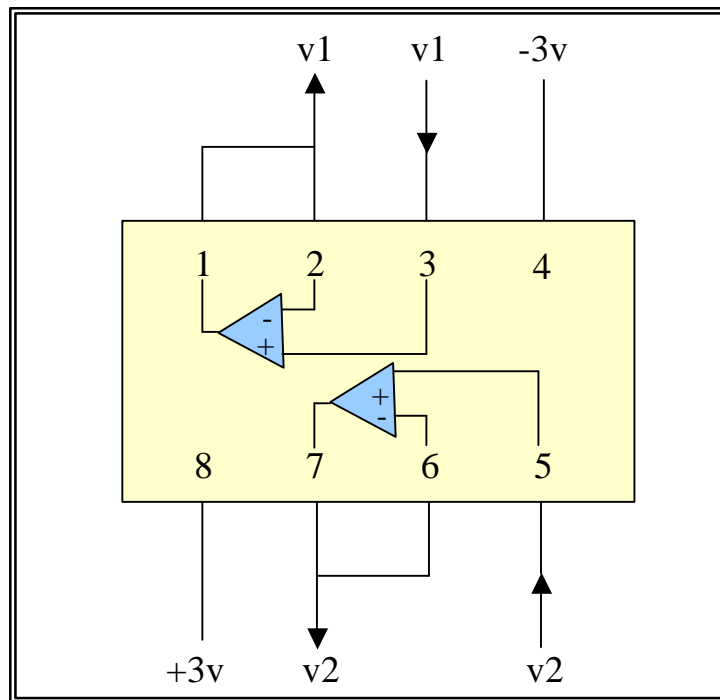


Figure I-2 : Amplificateur opérationnel à entrée JFET. Broches 1 et 2, 7 et 6 : voies de sorties des signaux bioélectriques 1 (v_1) et 2 (v_2) ; broches 4 et 8 : alimentation (+) et (-) du JFET ; broches 3 et 5 : entrées du JFET venant de l'électrode d'enregistrement.

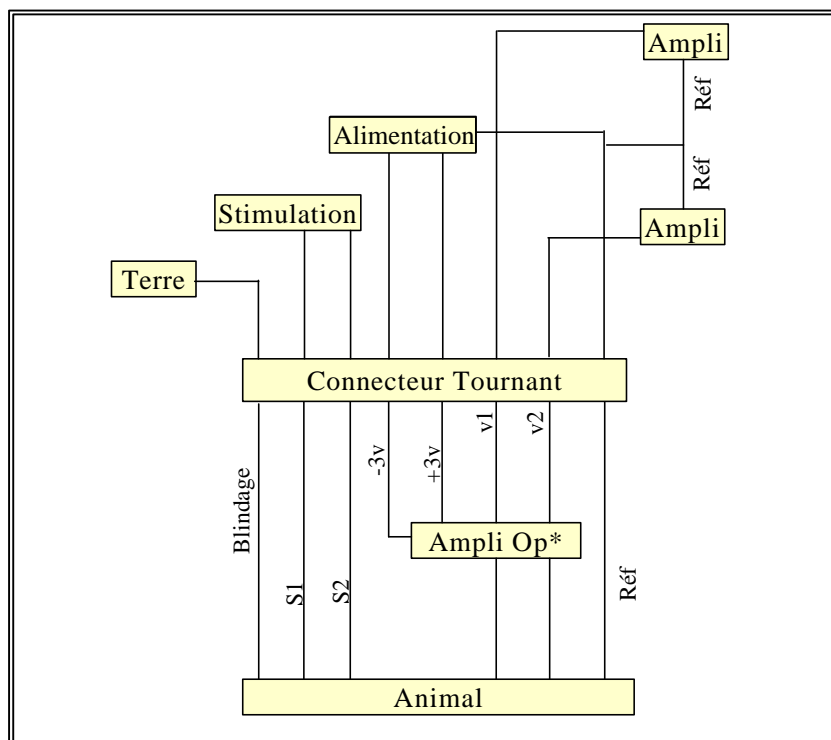


Figure I-3 : Schéma de la chaîne de stimulation et d'enregistrement électrophysiologique (* = Amplificateur opérationnel à entrée JFET, voir figure 1).

En ce qui concerne les potentiels d'action, les électrodes utilisées sont identiques à celles employées pour l'enregistrement des potentiels de champ, sauf qu'elles ont un diamètre de 50 μm . La stimulation est produite par le même stimulateur, avec des intensités variant de 60 à 600 μA . Les potentiels d'action préfrontaux évoqués par la stimulation du MD sont filtrés (300-10000 Hz), amplifiés (Gain = 10000) et visualisés sur un oscilloscope, puis enregistrés (logiciel pClamp 6, Axon Instruments).

3/ Habituation aux enregistrements électrophysiologiques

Après un délai minimum de 5 jours après l'implantation des électrodes, les animaux sont habitués pendant une période de 4 jours au transport de l'animalerie à la pièce d'expérimentation et aux connexions et déconnexions de leur têtère au système de stimulation/enregistrement électrophysiologique. A la suite de cette période d'habituation, on procède à un enregistrement des réponses électrophysiologiques de base sur une période de 2-3 jours (une séance par jour). Cinq jours plus tard, un dernier enregistrement basal est effectué pour vérifier la stabilité de la réponse. Pour chaque séance d'enregistrement (réalisée dans le contexte qui sert par la suite de contexte d'extinction), les réponses sont recueillies 5 minutes après la connexion de la têtère au dispositif de stimulation et d'enregistrement électrophysiologique. Trois enregistrements, espacés de 2 minutes, sont effectués pour vérifier la stabilité des réponses au sein de la séance. Seuls les animaux présentant une assez grande stabilité de la réponse électrophysiologique (variation d'amplitude de la réponse inférieure à 10 %) au cours des 3-4 séances d'enregistrement (établissement de la réponse basale) sont conservés pour la suite de l'expérience.

D/ Techniques immunohistochimiques

1/ Protocole expérimental

Les expériences immunohistochimiques ont été réalisées à la suite d'un protocole de conditionnement et d'extinction de la peur apprise. Soixante dix-huit animaux ont été utilisés pour ces expériences. Après une période d'habituation de 3 jours, les animaux sont séparés en 4 groupes (une description précise de ces groupes est donnée dans le chapitre VI). Les animaux destinés au conditionnement reçoivent, 24 heures plus tard, une série de 5 présentations couplées « son-choc » (description du protocole de conditionnement dans la partie "Conditionnement aversif "de ce

chapitre). Le lendemain du conditionnement, ces animaux sont soumis au protocole d'extinction de la peur apprise. Ce traitement est reproduit le jour suivant pour certains animaux. Une partie de ces animaux ayant subi les deux séances d'extinction est soumise au test de rétention de l'extinction (TRE) qui a lieu 8 jours plus tard. Suivant les groupes, les animaux sont sacrifiés, et leurs cerveaux sont prélevés soit après le conditionnement (2 ou 5 heures après le conditionnement), soit à la fin du premier ou du deuxième jour d'extinction, soit à l'issue du TRE (2 heures après). L'extinction de la peur apprise et le TRE consiste, respectivement, à une série de 20 et 4 présentations du son seul (2500 Hz, 80 dB, 20 secondes) séparées par un intervalle compris entre 20 et 180 secondes.

2/ Perfusion et coupe des cerveaux

Les variations du niveau d'activation de gènes immédiats précoces (IEG) étant un indice du niveau d'activité d'une population neuronale donnée, l'objectif de ce travail a été d'évaluer l'immunoréactivité de deux marqueurs (c-fos et zif 268) dans les structures cérébrales impliquées dans *l'extinction de la peur apprise*. Pour cela, nous avons utilisé deux anticorps polyclonaux anti-c-fos (Rabbit polyclonal anti-c-fos, Oncogene) et anti-Zif 268 (Rabbit polyclonal anti-zif268, Santa Cruz) fabriqués chez le lapin. L'induction de ces deux IEG étant rapide et transitoire (Morgan et Curran, 1991 ; Duncan et coll., 1996), tous les animaux ont été perfusés 2 h après le début de l'extinction de la peur apprise.

Les animaux sont anesthésiés par injection intrapéritonéale d'avertine. Les cerveaux sont perfusés avec 50 ml de solution saline (NaCl ; 9g/l), puis avec 100 ml de liquide fixateur (paraformaldéhyde 4 % dilué dans du tampon phosphate (PB ; 0.1 M ; pH = 7.4)). Les cerveaux sont ensuite rapidement prélevés et post-fixés par immersion dans le même fixateur à 4°C pendant environ 16 h. Des coupes sériées de 50 µm d'épaisseur ont été réalisées au vibratome (Lancer) et conservées dans du PB jusqu'à utilisation.

3/ Protocole immunohistochimique

Les coupes flottantes sont rincées avec du PB (4 X 10 min), puis placées dans une solution PB contenant de l'H₂O₂ à 0,3 % pendant 30 minutes dans le but d'éliminer la peroxydase endogène. Après 4 rinçages successifs avec du PBS (PB plus 0,9 % NaCl), les coupes sont incubées dans une solution de saturation PBS-BSA-GS-TX [PBS contenant 0,2 % BSA (bovine serum albumin ; Sigma) ; 0,2 % normal goat serum (*DIFCO*) ; 0,2 % Triton x 100 (Sigma)] pendant 1 heure à

température ambiante. Les coupes sont ensuite incubées en présence des anticorps primaires anti-c-fos (1 /30000) et anti-Zif268 (1/5000) dilués dans le tampon de saturation pendant 24 heures à 4°C sous agitation.

Après rinçage dans du PB-TX (4 X 10 min), les coupes sont incubées en présence d'anticorps secondaires biotinylés anti-lapin (Jackson, USA) dilués au 1/2000 dans la solution PB-TX-BSA-GS pendant 2 h à température ambiante. Après 4 rinçages dans du PBS-TX, les coupes sont incubées avec le complexe avidine-biotine-peroxydase (kit ABC ; Vector Laboratories) pendant deux heures à température ambiante. Après des rinçages successifs dans du PBS-TX (2 X 10 min), du PB (1 X 10 min) et du Tris-HCl (0.05 M ; pH = 7.5) (1 X 10 min), l'activité peroxydasique est révélée par l'utilisation du chromogène 3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride (DAB ; 0.03 %) dissout dans du tampon Tris-HCl en présence de H₂O₂ (0.03 %) pendant 5-15 minutes. La réaction colorimétrique est stoppée par rinçages successifs des coupes dans du Tris-HCl (10 min) puis PB 0.1 M (2 X 10 min). Les coupes sont ensuite déshydratées, puis montées entre lames et lamelles.

E/ Analyses histologiques

A la fin des expériences électrophysiologiques, chaque animal reçoit une dose létale d'avertine (10 ml/kg, i.p), puis est perfusé par voie intracardiaque avec du NaCl à 0,9 %, suivie d'une solution de formol à 10 %. Le cerveau est ensuite prélevé et placé dans une solution de fixateur (formol (10%)–saccharose (30 %)) pendant 48 heures à 4°C. Des coupes frontales de 60 µm d'épaisseur sont alors réalisées sur un microtome à congélation puis montées sur des lames gélatinées et colorées à la thionine afin de contrôler les sites exacts d'emplacement des électrodes dans le CPFm et le MD.

F/ Analyses statistiques

1/ Tests paramétriques

Les données électrophysiologiques, immunohistochimiques et comportementales sont analysées au moyen d'analyses de variances (ANOVAs) à un ou plusieurs facteurs, dans lesquelles les différences inter- et intra-groupes sont étudiées. Les comparaisons *à postériori* sont faites à l'aide du test F de Scheffe.

2/ Signification statistique des résultats

Sur les graphiques, la signification statistique des résultats est indiquée de la façon suivante :

* : $p < 0,05$; ** : $p < 0,01$; *** : $p < 0,001$; ns : non significatif.



La Leçon d'anatomie du docteur Nicolaes Tulp, Rembrandt, 1632,
huile sur toile, 169,5 x 216,5 cm, La haye, Mauritshuis.

III / CARACTERISTIQUES DES REPONSES EVOQUEES PREFRONTALES

Le CPFm peut être défini hodologiquement par les relations réciproques qu'il entretient avec le MD (voir chapitre I). Le MD peut être divisé sur la base de critères architectoniques, myéloarchitectoniques et hodologiques en 4 segments : médian, central, latéral et paralamellaire (Groenewegen, 1988). Ces quatre segments projettent topographiquement sur le CPFm, qui est lui-même composé des aires suivantes : cortex précentral, cortex cingulaire antérieur dorsal, aires prélimbique et infralimbique. Le segment médian du MD projette sur les aires prélimbique et infralimbique ; le segment central sur le cortex préfrontal orbito-latéral (aires insulaires agranulaires dorsale et ventrale) ; le segment latéral sur le cortex cingulaire antérieur dorsal ; enfin, le segment paralamellaire envoie des fibres sur le cortex préfrontal précentral. Ces projections thalamiques sont pour la plupart ipsilatérales et se terminent sur les couches cellulaires III, V et VI du CPFm (Krettek et Price 1977 ; Groenewegen, 1988 ; Minciocchi et Granato 1989 ; Kuroda et coll. 1998). Le CPFm, à son tour, envoie des fibres (selon une organisation topographique qui ne sera pas évoquée ici) dans le MD (Groenewegen, 1988 ; Kuroda et coll., 1998 ; Tanemichi et coll., 2001).

L'ensemble de ces observations anatomiques a été confirmé par des données électrophysiologiques (Pirot et coll., 1994). Ces études montrent particulièrement que les relations réciproques thalamo-préfrontales constituent un bon modèle d'analyse de la plasticité synaptique préfrontale. En effet, la stimulation du MD active les fibres MD-CPFm, et également les collatérales récurrentes des fibres CPFm-MD (**Figure II-1**).

La stimulation du MD induit donc deux types de réponses électrophysiologiques : une réponse à faible latence (< 4 ms) supportée par la transmission synaptique thalamo-corticale et une réponse à grande latence (> 10 ms) supportée par la transmission synaptique cortico-corticale, ces projections étant de type excitatrice (voies glutamatergiques). De plus, Pirot et ses collègues (1994) ont observé que les réponses électrophysiologiques excitatrices à faible latence (< 4 ms) obtenues par la stimulation du MD étaient enregistrées majoritairement au niveau de la couche cellulaire III et, dans une moindre mesure, au niveau de la couche V. De façon opposée, les réponses à forte latence (> 10 ms) ont été obtenues majoritairement au niveau des couches cellulaires V et VI et également dans une moindre mesure dans la couche III.

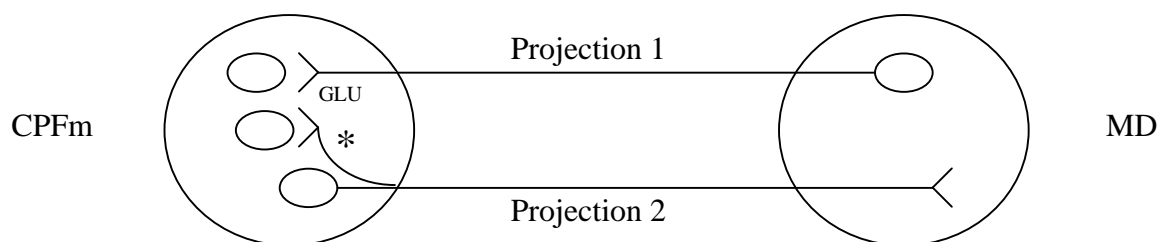


Figure II-1 : Illustration de la connexion bilatérale thalamo-corticale. La stimulation du MD active les projections 1 et 2, en évoquant respectivement dans le CPFm, une réponse orthodromique (réponse à faible latence) et une réponse antidromique (réponse à grande latence). Les deux projections sont de type excitateur (le neurotransmetteur impliqué étant le glutamate : GLU). L'astérisque représente une collatérale récurrente. Illustration adaptée à partir des données de Pirot et collaborateurs (1994).

Avant d'étudier la plasticité des synapses glutamatergiques préfrontales associée aux tâches comportementales (acquisition, extinction et test de rétention de l'extinction), il nous a semblé nécessaire de caractériser les réponses préfrontales évoquées (potentiels d'action et potentiels de champ) à la suite de la stimulation de la partie médio-dorsale du thalamus chez la souris. Nous avons particulièrement analysé trois types de plasticité des synapses préfrontales (plasticité induite artificiellement) : la DLT, la PLT et la facilitation (ou plasticité transitoire) de la transmission synaptique préfrontale.

A/ Matériel et méthodes

1/ Animaux

Les expériences ont été réalisées sur 100 souris mâles de la lignée C57BL/6, âgées de 6 semaines au moment des expériences et pesant en moyenne 25 g. La manipulation et l'entretien des animaux sont décrits dans le chapitre précédent.

2/ Les opérations

L'anesthésie générale des animaux est obtenue par injection intrapéritonéale d'avertine [fabriquée à partir d'une solution mère de 1,25 ml d'avertine (100 mg de tribromoéthanol dissout dans 62 ml d'alcool amylique tertiaire) ajoutée à 5 ml d'alcool absolu et 62.5 ml de solution saline ; 10

ml/kg, i.p]. L'animal anesthésié est ensuite fixé sur un appareil stéréotaxique (Narishige, Japon) dont les barres d'oreilles et d'incisives sont préalablement réglées au même niveau. Après mise en évidence de l'os crânien par une incision cutanée, une trépanation est effectuée selon les coordonnées stéréotaxiques de chaque structure (Franklin et Paxinos, 1996). Les études sont faites soit chez des souris anesthésiées (variation de la réponse préfrontale en fonction de la position dorso-ventrale de l'électrode de stimulation au niveau du MD) soit chez l'animal éveillé et libre de ses mouvements (activité unitaire ; études sur la PLT, la DLT et la facilitation des réponses préfrontales). Dans ce dernier cas, les électrodes sont maintenues dans les sites de stimulation et d'enregistrement à l'aide de ciment dentaire ; l'animal demeure dans la pièce d'opération chauffée à 25 °C jusqu'à son réveil. Il est ensuite remis dans l'animalerie pour une période de récupération d'au moins 5 jours.

3/ Procédure expérimentale

Les électrodes de stimulation et d'enregistrement sont descendues verticalement (hémisphère gauche) selon les coordonnées du MD (0,8 mm postérieurement au Bregma ; 0,3 mm de latéralité ; 4-4,5 mm de profondeur, à partir de l'os crânien), et du CPFm (2,4 mm antérieurement au Bregma ; 0,4 mm de latéralité ; 1,4-1,6 mm de profondeur, à partir de l'os crânien). Les électrodes sont placées ipsilatéralement en raison du fait que les projections du MD sur le CPFm sont en grande partie ipsilatérales (Krettek et Price, 1977 ; Groenewegen, 1988 ; Minciacchi et Granato, 1989), les connexions contralatérales indirectes étant faibles (Kuroda et coll., 1998). La recherche de la réponse électrophysiologique (potentiels évoqués) est effectuée avec une intensité de stimulation variant entre 60 et 600 μ A.

En ce qui concerne la recherche des potentiels d'action, les implantations sont réalisées avec des électrodes de diamètre plus petit (50 μ m), mieux adaptées pour recueillir à la fois l'activité unitaire et les potentiels de champ. Cette étude commence par une sélection d'animaux présentant des réponses globales évoquées (potentiels de champ) qui correspondent aux critères suivants : amplitude supérieure à 0,5 mV, stabilité supérieure à 90 % (la stabilité est déterminée sur la base d'une dizaine d'enregistrements successifs à la fréquence de 0.2 Hz). Par la suite, les paramètres de filtration et d'amplification sont modifiés (300-10000 Hz ; Gain x 10000) en vue de visualiser les potentiels d'action préfrontaux obtenus par la stimulation du MD.

B/ Résultats

1/ Paramètres mesurés

Le potentiel de champ enregistré dans le CPFm à la suite de la stimulation ipsilatérale du MD est caractérisé par deux complexes négatifs-positifs (N1-P1 ; N2-P2) initiaux suivis par deux complexes positifs-négatifs plus tardifs (P2-N3 ; P3-N4) (**Figure II-3**). Ces différentes composantes sont caractérisées à partir de leurs latences : la composante N1-P1 apparaît autour de 3-7 ms, alors que la composante N2-P2 apparaît autour de 8-13 ms. Les composantes plus tardives apparaissent respectivement autour de 13-18 ms (P2-N3) et de 20-33 ms (P3-N4).

La plasticité de la transmission synaptique préfrontale est évaluée à partir des changements de l'amplitude des pics N1 et P2 (**Figure II-3**) pour deux raisons principales. Premièrement, l'analyse des enregistrements d'activité unitaire (évoquée par la stimulation du MD) couplée aux enregistrements de potentiels de champ (**Figure II-2**) montre que la stimulation du MD évoque dans le CPFm un ou plusieurs potentiels d'action qui apparaissent systématiquement à la latence des composantes N1-P1 et N2-P2 (**Figure II-2**). Ces composantes correspondent donc à des enveloppes de potentiels d'action (« *population spike* ») générés par les cellules cibles préfrontales. Deuxièmement, les composantes N1-P1 et N2-P2 n'étant pas toujours facilement dissociables (les pics P1 et N2 étant souvent confondus), les variations de l'enveloppe de potentiels d'action sont donc mesurées entre N1 et P2 (**Figure II-3**).

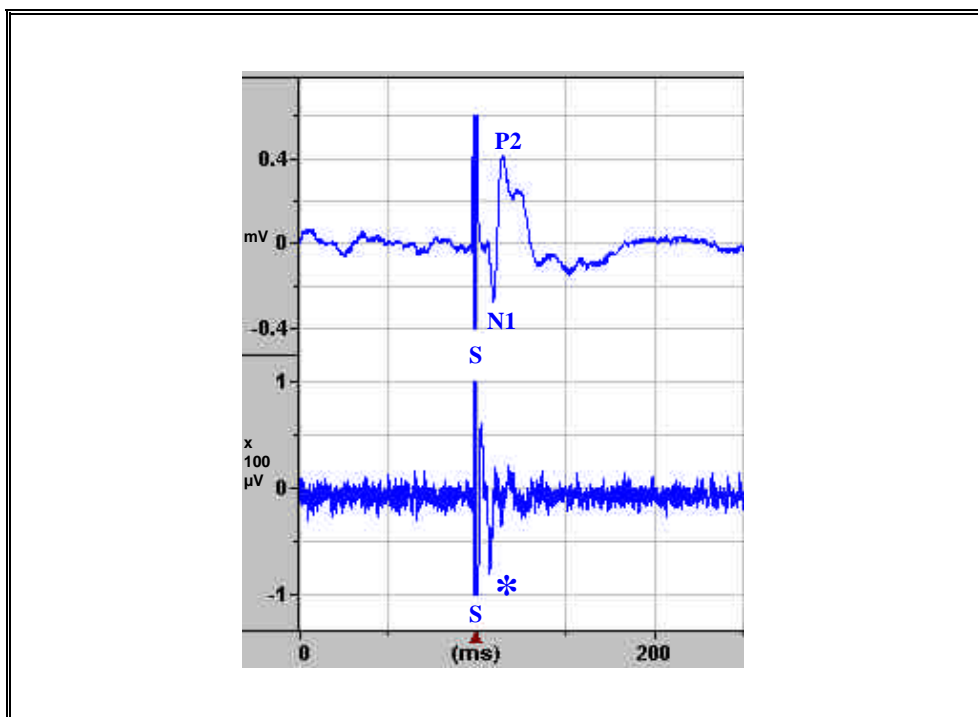


Figure II-2 : Exemple d'enregistrement de potentiel de champ (en haut) et de potentiel d'action (en bas) préfrontaux évoqués par la stimulation du MD. Les enregistrements sont obtenus à partir de la même électrode avec un filtrage différent ajusté pour révéler soit le potentiel de champ ($\times 1000$; 1-1000 Hz), soit l'activité unitaire ($\times 10000$; 300-10000 Hz). La latence de l'activité unitaire (*) coïncide avec la latence de la composante N1-P1 du potentiel de champ. La plasticité synaptique est indexée à partir des changements de l'amplitude de l'onde N1-P2 car les composantes N1-P1 (activation orthodromique) et N2-P2 (activation antidromique) ne sont pas facilement dissociables. Les changements des composantes tardives (c'est-à-dire P2-N3 et P3-N4, voir texte) n'ont pas été considérés dans la présente étude. S : artéfact de stimulation.

2/ Variation de l'intensité de la stimulation

Lorsque l'on fait varier l'intensité de stimulation, on observe une variation de l'amplitude du complexe N1-P2 du potentiel de champ préfrontal. On observe une augmentation de l'amplitude en fonction de l'intensité de stimulation pour des impulsions (chocs) allant de 25 à 500 μA , puis un plateau est atteint pour une intensité de stimulation se situant autour de 600 μA (**Figure II-4**). Pour toutes les autres études électrophysiologiques, nous avons choisi une intensité de stimulation procurant une réponse correspondant à 80 % de la réponse maximale.

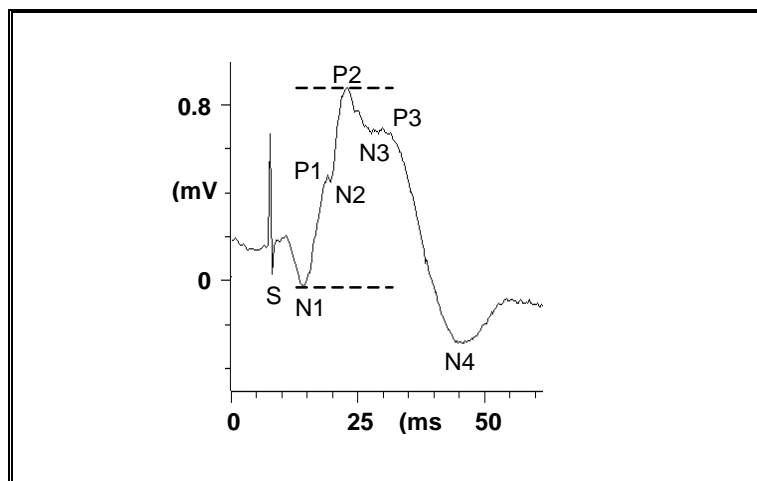


Figure II-3 : Exemple de potentiel de champ évoqué dans le CPFm par la stimulation du MD. N1-4 : composantes négatives, P1-3 : composantes positives. La plasticité synaptique est évaluée à partir des changements d'amplitude de l'onde N1-P2.

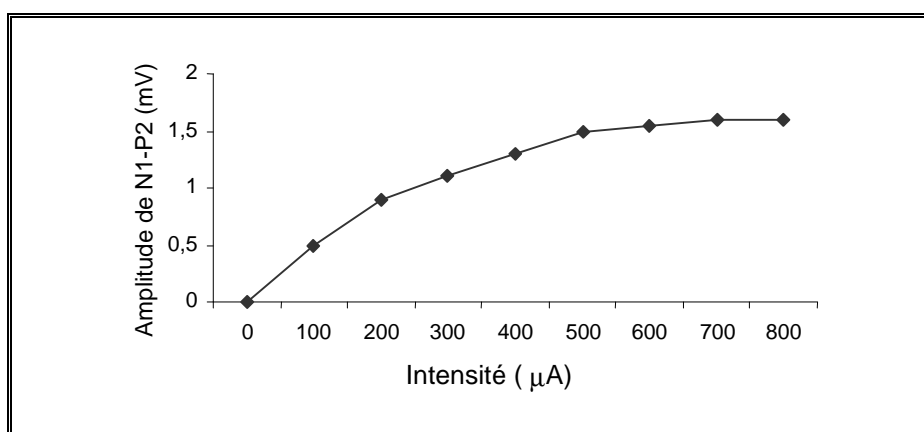


Figure II-4 : Exemple de courbe entrée/sortie : variation de l'amplitude du complexe N1-P2 en fonction de l'intensité de stimulation.

3/ Emplacement de l'électrode d'enregistrement

Le déplacement dorso-ventral (de 1,4 à 1,6 mm) ainsi que le déplacement latéral (de 0.2 à 0.4 mm) de l'électrode d'enregistrement au niveau du CPFm pour une position fixe de l'électrode de stimulation au niveau du MD n'as pas donné lieu à des modifications significatives du potentiel de champ observé au cours de nos études.

4/ Emplacement de l'électrode de stimulation

Lorsque l'on fait varier la profondeur de l'électrode de stimulation au niveau du MD, en gardant une position fixe de l'électrode d'enregistrement dans le CPFm (au niveau de l'aire prélimbique), on observe que les amplitudes des complexes N1-P2 et P2-N3 sont maximales pour une position ventrale de l'électrode de stimulation, alors que l'amplitude de la composante N3-P3 est maximale pour une position dorsale de l'électrode (**Figure II-5**). Cependant, comme nos travaux électrophysiologiques ne concernent que l'analyse des modifications d'amplitude de la composante N1-P2 (enveloppe de potentiels d'action), l'électrode de stimulation est donc systématiquement placée au niveau ventral (amplitude maximale) lors des implantations.

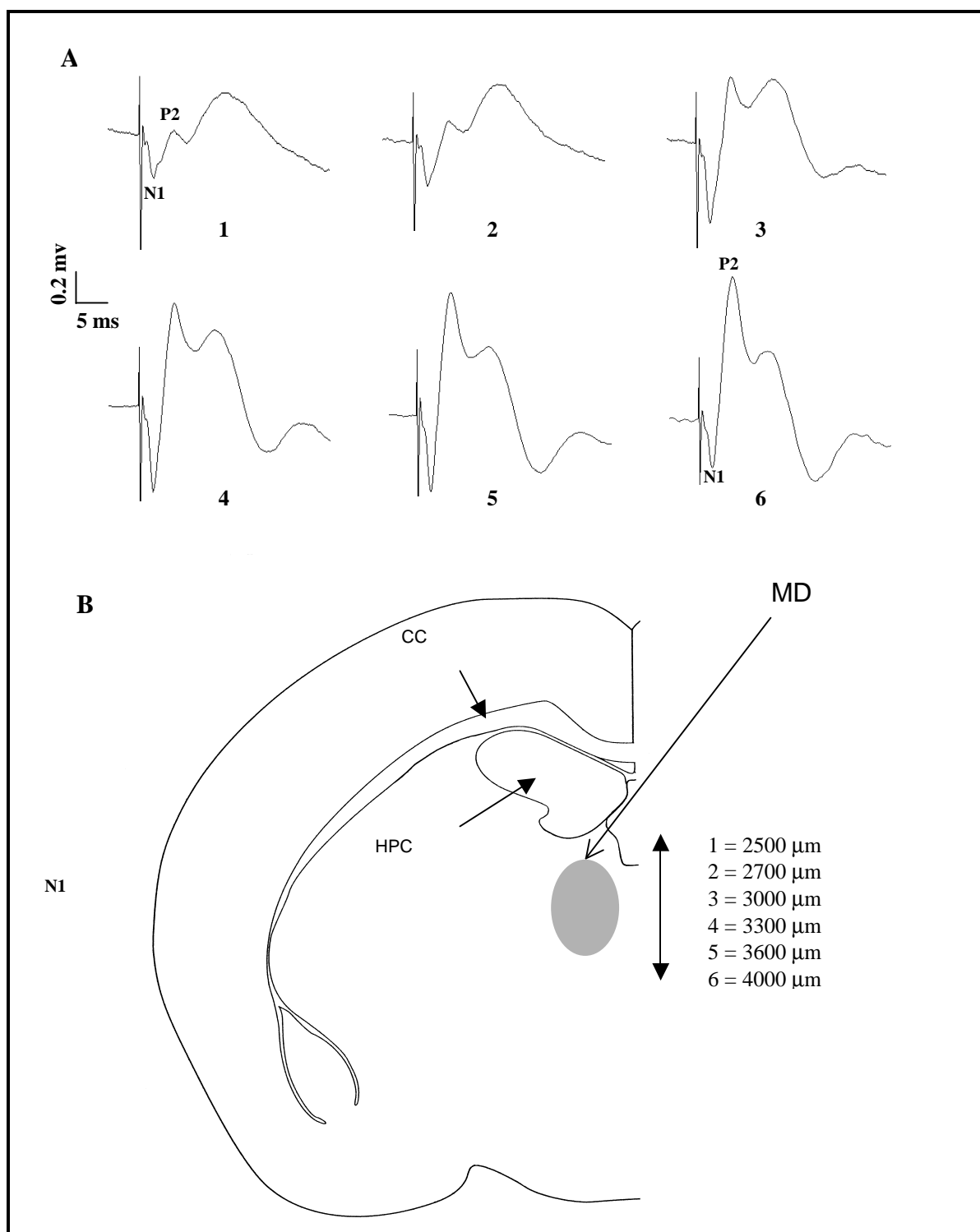


Figure II-5 : Exemple montrant l'évolution des composantes de la réponse préfrontale évoquée par la stimulation du MD (A), en fonction de la profondeur de l'électrode de stimulation (B) et avec une position fixe de l'électrode d'enregistrement chez un même animal. La composante N1-P2 est maximale dans la partie ventrale alors qu'elle est minimale dans la partie dorsale.

5/ Stimulation à basse fréquence

L'induction d'une DLT de l'efficacité synaptique préfrontale par une stimulation à basse fréquence (SBF) du MD n'ayant jamais été observée, nous avons tenté de déterminer les paramètres de stimulation, chez l'animal éveillé, capables de provoquer une telle modification dans le CPFm. Seules les données issues de la stimulation du MD à 2 Hz (SBF : 1 train de 1200 chocs à 2 Hz) sont rapportées ici (**Figures II-6 et II-7**). La SBF est appliquée 2 minutes après le dernier enregistrement servant à l'établissement du niveau basal de l'amplitude du complexe N1-P2 (5 périodes d'enregistrement ; une période toutes les 2 minutes ; 5 enregistrements à 0.2 Hz par période). Les enregistrements post-SBF sont effectués 2, 4, 8, 16 et 32 minutes plus tard (5 potentiels de champ à 0.2 Hz par période d'enregistrements).

Tous les animaux testés (n = 9) présentent une grande stabilité de leur réponse basale établie sur 3 jours ($F_{4,28} = 0.12$; ns). L'examen des changements individuels de la réponse révèle que suite à la SBF deux groupes d'animaux se distinguent (**Figure II-7**) : le premier groupe (n = 5) présente une DLT de l'amplitude du complexe N1-P2, tandis que l'autre groupe (n = 4) présente une potentialisation significative de l'amplitude de l'onde N1-P2 à partir de la 16^{ème} minute d'enregistrement post-SBF. La SBF n'induit pas de modification de la latence de la composante N1-P2. Une ANOVA à un facteur (11 niveaux) indique un effet de la SBF ($F_{10,80} = 3,25$; $p < 0,01$). Une analyse à deux facteurs indique un effet significatif des groupes ($F_{1,7} = 29,10$, $p = 0,001$) et de l'interaction groupe x temps ($F_{10,70} = 10,8$, $p < 0,001$).

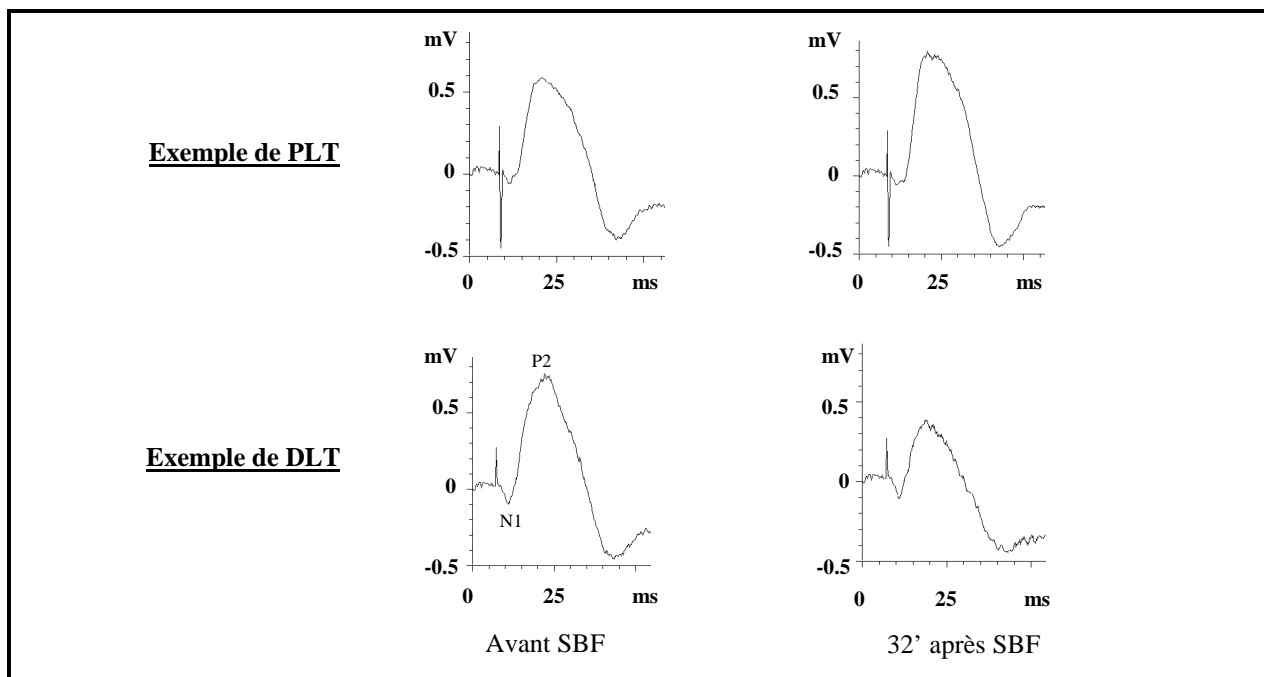


Figure II-6 : Exemple représentatif des changements des potentiels de champ préfrontaux enregistrés avant (gauche) et 32 minutes après la SBF du MD (droite).

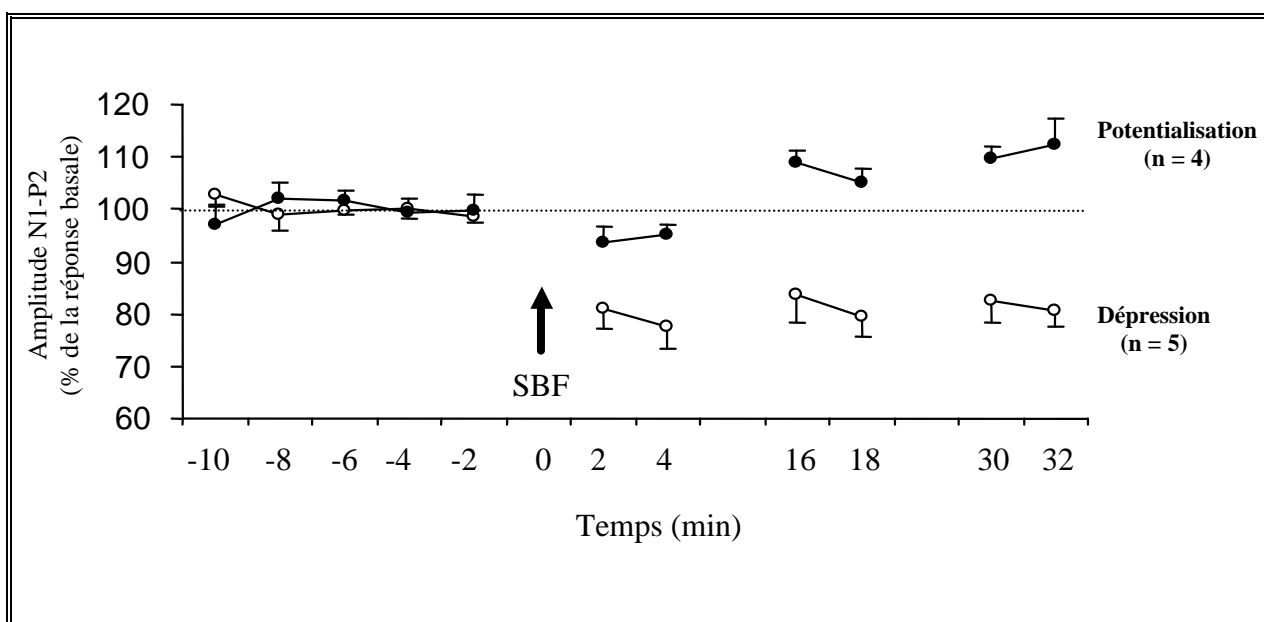


Figure II-7 : Changements moyens d'amplitude du complexe N1-P2 au cours de l'établissement de la réponse de base (enregistrements : -10 ; -8 ; -6 ; -4 ; -2 minutes) et à la suite de la SBF du MD (enregistrements : 2 ; 4 ; 16 ; 18 ; 30 et 32 minutes). La SBF induit soit une potentialisation (tracés post-SBF supérieurs) soit une DLT (tracés post-SBF inférieurs) de la transmission thalamo-préfrontale.

6/ Stimulation à haute fréquence

Les paramètres d'induction de la PLT préfrontale suite à une stimulation à haute fréquence du MD (SHF) sont identiques à ceux qui induisent la PLT dans la voie hippocampo-préfrontale (2 séries de 10 trains à 0.1 Hz : 250 Hz-200 ms par train ; Burette et coll., 1997). Ce choix est motivé par le fait que les terminaisons des fibres glutamatergiques du MD et hippocampiques convergent sur les mêmes neurones post-synaptiques du CPFm (Gigg et coll., 1994). La SHF est appliquée 2 minutes après le dernier enregistrement servant à l'établissement de la réponse de base (5 périodes d'enregistrements : 16, 8, 4 et 2 minutes avant la SHF ; 5 enregistrements à 0.2 Hz par période). Les enregistrements post-SHF sont effectués 2, 4, 8, 16 et 32 minutes plus tard (5 potentiels de champ à 0.2 Hz par période d'enregistrements).

Tous les animaux testés présentent une grande stabilité de leur réponse basale ($F = 1$). L'application de la SHF induit d'abord, comme le montre les enregistrements effectués 2 minutes plus tard (**Figure II-8**), une dépression significative de l'amplitude du complexe N1-P2 ($F_{4,24} = 4,29$, $p < 0,01$). L'amplitude de N1-P2 retrouve ensuite le niveau basal (enregistrements de 4-8 minutes) avant de présenter une augmentation significative au-delà du niveau basal (enregistrement effectué à 32 minutes) ($F_{4,24} = 9,12$, $p = 0,0001$). L'analyse statistique montre également une absence de différence inter-individuelle après la SHF. Enfin, la latence du complexe N1-P2 n'est pas affectée par la SHF du MD.

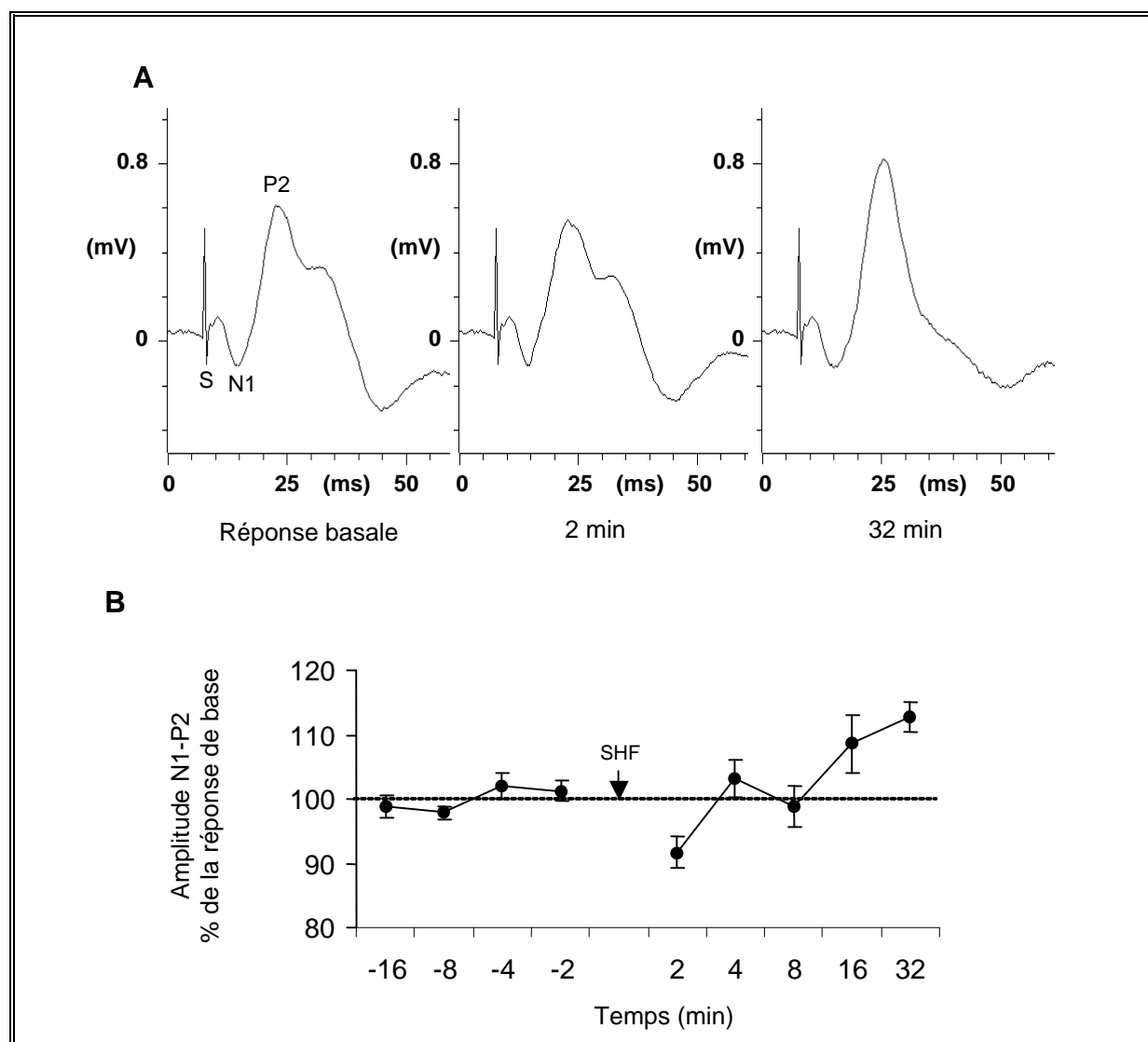


Figure II-8 : **A** : Exemple représentatif des changements de la réponse préfrontale enregistrée avant (gauche), 2 minutes (dépression) et 32 minutes (potentialisation) après la SHF du MD. **B** : Changements moyens d'amplitude du complexe N1-P2 au cours de l'établissement du niveau basal de la réponse préfrontale (enregistrements pré-SHF : 16, 8, 4 et 2 minutes avant la SHF) et à la suite de la SHF du MD (enregistrements post-SHF : 2, 4, 8, 16 et 32 minutes après la SHF). La SHF thalamique induit une dépression suivie d'une potentialisation de la transmission thalamo-préfrontale.

7/ Effet d'un double choc

L'application d'un double choc, qui conduit à la facilitation ponctuelle de l'efficacité synaptique (*paired pulse facilitation* : PPF), est une technique qui est souvent utilisée pour évaluer l'origine pré ou postsynaptique de la plasticité à long terme (cas de la PLT). Nous savons, en effet, que la facilitation de l'efficacité synaptique est un phénomène présynaptique (Zucker, 1973, 1989 ;

Wu et Saggau, 1994 ; Christie et Abraham, 1994) au cours duquel l'influx calcique résiduel, généré par l'arrivée du premier signal électrique (potentiels d'action) à la terminaison axonale (effet du premier choc), induit une augmentation de la libération de neurotransmetteur en réponse au deuxième signal afférent (effet du second choc). Or, si la PLT a une origine présynaptique, le phénomène de facilitation se trouve diminué après l'induction de la PLT (Anwyl et coll., 1989 ; Asztely et coll., 1990 ; Debanne et coll., 1996). Dans le cas contraire (PLT postsynaptique), de nombreux auteurs notent une absence d'amplification de la facilitation (McNaughton, 1982 ; Anwyl et coll., 1989 ; Muller et Lynch, 1989 ; Zalutsky et Nicoll, 1990 ; Manabe et coll., 1993). Afin d'étudier ces phénomènes synaptiques au niveau du CPFm (et notamment sur les composantes excitatrices du potentiel de champ préfrontal : N1-P1 et N2-P2), nous avons déterminé les intervalles inter-chocs (entre 30 et 500 ms) qui entraînent la facilitation maximale de la réponse préfrontale. Dans un deuxième temps, nous avons analysé l'effet du double choc après une induction de la plasticité à long terme (PLT : 2 séries de 10 trains, 250 Hz-200 ms, à 0.1 Hz ; DLT : 1 train de 1200 chocs à 2 Hz).

Les résultats obtenus (**Figure II-9**) mettent en évidence une facilitation de l'amplitude du complexe N1-P2 pour des intervalles inter-chocs compris entre 30 et 300 ms ($F_{1,190} = 125,469$, $p < 0,001$). Aucune facilitation n'est observée pour des intervalles supérieurs à 300 ms ($F_{1,46} = 0,483$, ns). La facilitation est maximale entre 30 et 130 ms (en moyenne : 67 % d'augmentation de la réponse).

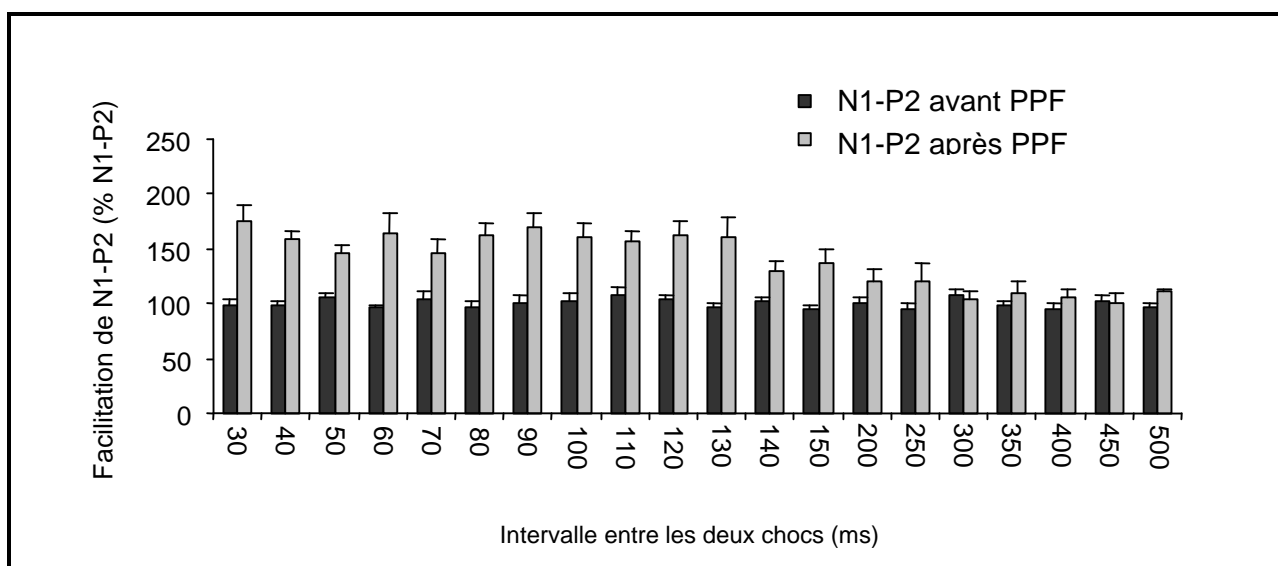


Figure II-9 : Graphique montrant la facilitation induite par l'application du double choc. La réponse induite par la première stimulation du MD reste stable au cours de l'expérience (N1-P2 avant PPF), seule la seconde réponse varie en amplitude en fonction de l'intervalle séparant les deux chocs (N1-P2 après PPF).

Les souris destinées à la SHF du MD sont testées en double choc 32 minutes après l'induction de la PLT, étant donné que cette PLT n'est significative qu'à partir de ce délai (**Figure II-8**). Les effets du double choc sont mesurés pour les intervalles produisant une augmentation maximale du complexe N1-P2 (c'est-à-dire : 30, 60, 90 et 120 ms).

Les résultats obtenus (**Figure II-10 A**) montrent que la stimulation à haute fréquence du MD (**Figure II-10 B**) entraîne une diminution significative ($F_{1,46} = 30,813$, $p < 0,001$) de la facilitation observée après le double choc. De plus, la comparaison entre l'amplitude de l'onde N1-P2 obtenue à la suite du double choc (avant la SHF) et l'amplitude de cette même composante à la suite de la SHF ne révèle pas de différence significative ($F_{1,46} = 2,052$, $p = ns$). Les analyses corrélatives effectuées entre l'amplitude de la PPF post-SHF et l'amplitude de la PLT (**Figure II-10 C**) effectuées pour l'intervalle de 30 ms indiquent un coefficient de corrélation $R = -0,901$. En d'autres termes, plus l'amplitude de la PLT induite est importante, plus l'amplitude de la PPF mesurée après la SHF est diminuée. Ces analyses corrélatives confirment les précédentes données.

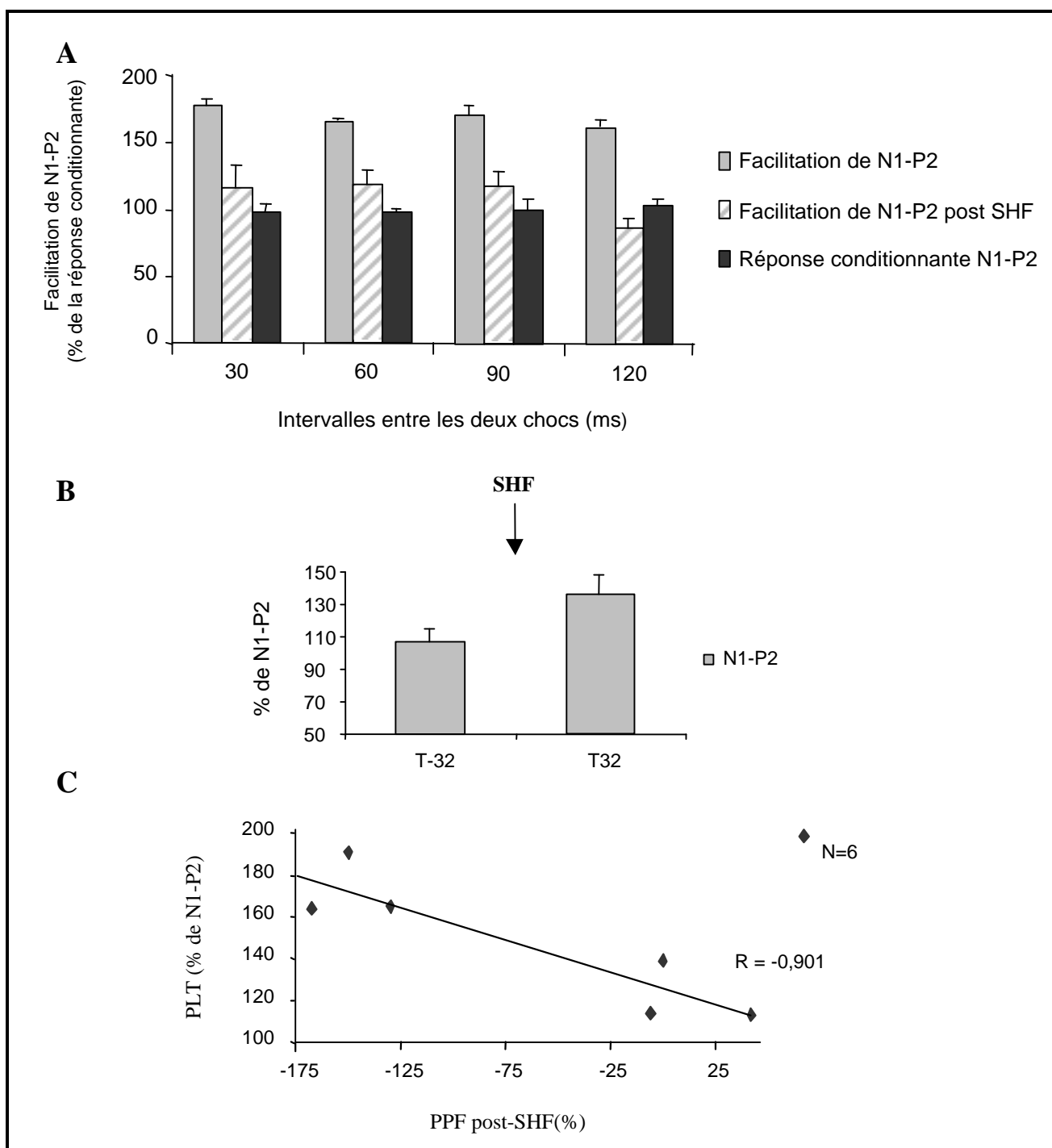


Figure II-10 : **A** : Graphique mettant en évidence une réduction de l'amplitude de la facilitation de l'onde N1-P2 après induction d'une PLT préfrontale par stimulation du MD. Les histogrammes représentent la réponse conditionnante (en noir) et les augmentations d'amplitude des réponses tests avant (en gris) et après (en gris hachuré) la SHF. **B** : Amplitude du complexe N1-P2 avant (T-32) et après (T 32) la SHF. **C** : Amplitude de la PLT en fonction de l'amplitude de la PPF post-SHF.

Concernant l'analyse des effets de l'induction d'une DLT préfrontale sur le phénomène de PPF, nous avons utilisé les paramètres précédents d'induction de la DLT dans la voie thalamo-

préfrontale (SBF : 1 train de 1200 chocs à 2 Hz). L'application post-SBF de la procédure de double choc a été faite 32 minutes après l'administration de la SBF, étant donné que la DLT induite dans le CPFm par stimulation du MD est maximale après ce délai (**Figure II-7**). Les intervalles, entre les deux chocs, utilisés sont ceux produisant une augmentation maximale de l'onde N1-P2 (intervalles : 30, 60, 90 et 120 ms).

Les résultats obtenus (**Figure II-11 A**) ne mettent en évidence aucune évolution significative ($F_{1,46} = 1,512$, ns) de la facilitation de l'onde N1-P2 à la suite de l'induction d'une DLT (**Figure II-11 B**) préfrontale. De plus, la facilitation (effet PPF) post-SBF obtenue sur la composante N1-P2 est statistiquement significative en comparaison à la composante N1-P2 mesurée avant induction de la DLT (mesurée lors du premier choc) ($F_{1,46} = 16,891$, $p = < 0,001$). Ces dernières données sont confirmées par les analyses de corrélations (effectuées pour l'intervalle de 30 ms) qui mettent en évidence une corrélation négative (**Figure II-11 C**) ($R = -0,924$) entre l'amplitude de la DLT et l'amplitude de la PPF à la suite de la SBF.

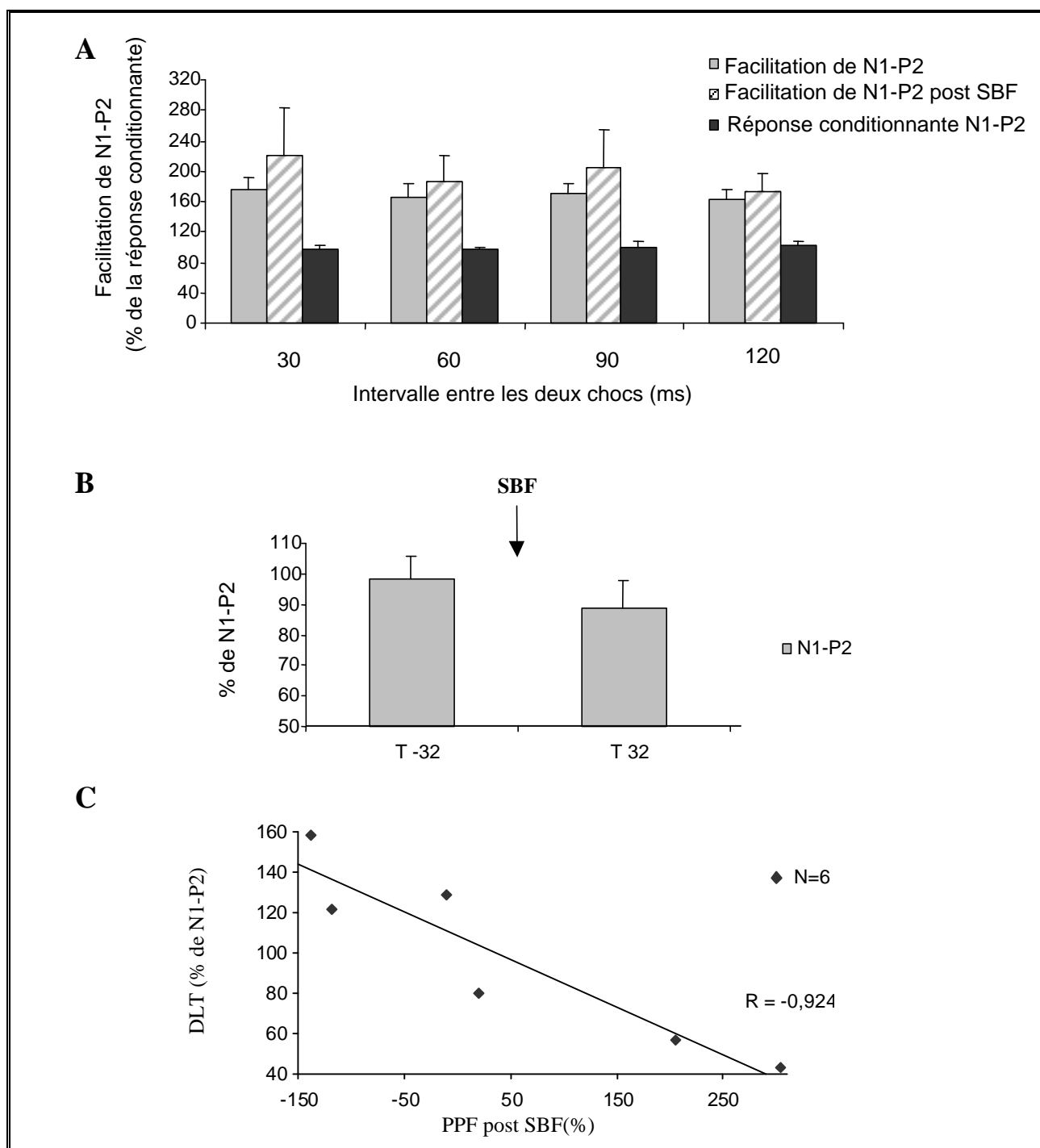


Figure II-11 : **A** : Graphique mettant en évidence l'amplitude de la facilitation du complexe N1-P2 après induction d'une DLT préfrontale par stimulation du MD. Les histogrammes représentent la réponse conditionnante (en noir) et les augmentations d'amplitude des réponses tests avant (en gris) et après (en gris hachuré) la SBF. **B** : Amplitude du complexe N1-P2 avant (T-32) et après (T32) la SBF. **C** : Amplitude de la DLT en fonction de l'amplitude de la PPF post-SBF.

C/ Discussion

Nos résultats montrent que la stimulation du MD évoque un potentiel de champ préfrontal, caractérisé par un ensemble de complexes négatifs-positifs (composantes précoces : N1-P1, N2-P2 ; composantes tardives : N3-P3, P3-N4). L'amplitude de ce potentiel de champ varie en fonction de l'intensité de la stimulation et de la position dorso-ventrale des électrodes dans le MD. En gardant l'intensité de la stimulation constante, des changements durables d'amplitude des composantes précoces (seules composantes mesurées dans cette étude) s'observent après la SBF (DLT ou PLT) ou la SHF (PLT) du MD. Enfin, nous avons pu montrer l'existence du phénomène de plasticité ponctuelle de la réponse préfrontale : la facilitation induite par l'application d'un double choc (PPF). Cette plasticité ponctuelle se trouve affectée suite à l'induction d'une PLT préfrontale alors qu'elle reste inchangée dans le cas d'une DLT.

1/ Signification des composantes du potentiel de champ préfrontal

L'étude des caractéristiques du potentiel de champ préfrontal, évoqué par la stimulation électrique du MD, soulève la question de la signification des ondes qui compose ce potentiel. Il existe peu de données concernant l'électrophysiologie de la voie thalamo-préfrontale (que ce soit sur l'activité globale évoquée ou sur l'activité unitaire évoquée par stimulation du MD). Les rares données existantes, notamment sur l'activité unitaire (PA), font état de deux types de réponses excitatrices : des réponses à faibles latences et celles qui ont des latences élevées (Pirot et coll., 1994 ; Gioanni et coll., 1999). Les réponses à faibles latences (< 4 ms, obtenues avec une fréquence de stimulation comprise entre 0.3 et 1 Hz) sont de type orthodromique. Elles résultent de l'activation de la voie MD-CPFm, dont les fibres établissent des synapses dans l'aire prélimbique (Kuroda et coll., 1993, 1998). Les réponses à fortes latences (>10 ms, obtenues avec une fréquence de stimulation comprise entre 3 et 10 Hz) sont également monosynaptique (Kuroda et coll., 1993, 1998), mais de type antidromique. Elles résultent, en effet, de l'activation de collatérales récurrentes des fibres corticothalamiques (Pirot et coll., 1994).

La première composante initiale que nous avons observée (N1-P1 : 3-7 ms) semblent correspondre au premier type de réponses décrites par Pirot et coll., (1994). En effet, nous notons que la stimulation du MD induit également des potentiels d'action (PA) au niveau des neurones préfrontaux dont les latences, comprises entre 2 et 6 ms, coïncident bien avec celles de la composante N1-P1 du potentiel de champ. Ainsi, nous avons considéré la composante N1-P1

comme représentant la réponse excitatrice orthodromique à courte latence (Herry et coll., 1999). Bien que nous n'ayons pas pu détecter des PA à des latences supérieures à 7 ms, nous avons, toutefois, considéré la composante N2-P2 (8-13 ms) comme étant la réponse excitatrice antidromique à forte latence résultant des conséquences postsynaptiques de la transmission antidromique cortico-corticale. Cette composante pourrait, en effet, être générée par des cellules préfrontales situées dans des couches profondes (couches V et VI ; Pirot et coll., 1994). Nos implantations s'étant limitées aux couches superficielles, nous avons pu enregistrer l'enveloppe de PA (activité globale évoquée) des couches profondes, alors que l'enregistrement des PA (activité unitaire évoquée) de ces mêmes couches était pratiquement impossible. Un cas similaire a été rapporté concernant la voie hippocampo-septale. Garcia et Jaffard, (1992) ont mis en évidence que la stimulation des fibres hippocampo-septales génère un potentiel de champ septal comprenant une composante excitatrice représentant une enveloppe de PA qui peut être enregistrée à différentes profondeurs dans le septum latéral. Cependant, la coïncidence entre la latence des PA (générés par les neurones de la partie dorsal du septum latéral) et la latence de la composante excitatrice était observée uniquement à une profondeur pour laquelle l'amplitude de la composante était maximale et la latence minimale, c'est-à-dire dans la partie dorsale du septum latéral (Garcia et coll., 1997). Dans notre étude, l'utilisation d'électrodes plus fines (diamètre à la pointe < 50 μm) nous aurait probablement permis de détecter des PA, aux latences de la composante N2-P2, dans les couches profondes préfrontales.

Finalement, comme dans la majorité de nos enregistrements les deux composantes N1-P1 et N2-P2 ne sont pas facilement dissociables, nous avons considéré que le complexe formé par ces composantes (N1-P2) représente une enveloppe de PA évoqués par la stimulation du MD. Nous avons, par conséquent, indexé la plasticité de l'excitabilité synaptique préfrontale (en d'autres termes : la probabilité de décharge des cellules cibles) à partir des changements de l'amplitude du complexe N1-P2. Les composantes les plus tardives du potentiel de champ (N3-P3 et P3-N4), qui n'ont pas été évaluées dans ce travail, pourraient correspondre aux activations et inhibitions impliquant de nombreux relais synaptiques.

2/ Potentialisation et dépression préfrontale à long terme

Nos travaux nous ont permis de déterminer les paramètres d'induction d'une PLT et d'une DLT de la transmission synaptique au niveau préfrontal (CPFm) à la suite, respectivement, d'une stimulation à haute fréquence [2 séries de 10 trains (250 Hz, 200 ms) à 0.1 Hz] ou à basse fréquence

(1 train de 1200 chocs à 2 Hz) du MD. Les phénomènes de PLT et de DLT sont considérés comme représentant les bases neuronales de certaines formes d'apprentissage et de mémoire (Lynch et Baudry, 1984 ; Teyler et DiScena, 1984 ; Ito, 1989 ; Martin et coll., 2000). Ces phénomènes, majoritairement décrits au niveau de l'hippocampe (PLT) et du cervelet (DLT), ont également été observés au niveau du cortex cérébral (Hirsh et Crépel, 1991 ; Chen et coll., 1996 ; Kitagawa et coll., 1997).

Bien que ces deux phénomènes partagent des caractéristiques identiques (pour revue, voir Malenka, 1994), ils sont généralement induits avec des paramètres de stimulation différents (une SHF, brève pour l'induction de la PLT et une SBF continue, pour l'induction de la DLT). Cependant, dans le cortex visuel, la PLT peut être induite par une stimulation induisant généralement une DLT (Komatsu et coll., 1988 ; Berry et coll., 1989). Nos travaux montrent que la SBF (générant habituellement une DLT) de la région médio-dorsale du thalamus peut induire une DLT préfrontale mais également une potentialisation de la transmission synaptique. De façon contraire, certaines données ont mis en évidence que la SHF pouvait induire soit une PLT soit une DLT au niveau préfrontal (Hirsch et Crépel, 1990). L'ensemble de ces données démontre que la transmission synaptique préfrontale peut être soit potentialisée, soit déprimée à la suite d'une stimulation identique (stimulation connue pour induire une PLT ou bien celle induisant généralement une DLT), appliquée à une voie excitatrice préfrontale. Cependant, nos travaux concernant la PLT ne nous ont pas permis de mettre en évidence un tel effet : la SHF du MD induit uniquement une potentialisation de la transmission synaptique préfrontale. De plus, cette PLT est effective 32 minutes après la stimulation ce qui semble cohérent avec les données de la littérature. En effet, Teyler et coll., (1990) ont montré que la PLT néocorticale, contrairement à la PLT hippocampique (induite au niveau des synapses glutamatergiques du gyrus dentelé ou du CA1), nécessite un délai compris entre 30 et 90 minutes avant d'être pleinement exprimée.

Nos résultats ne permettent pas de mettre en évidence une DLT de la transmission synaptique à la suite de la SHF du MD comme cela a été suggéré par Hirsh et Crépel en 1990. Une explication possible pourrait concerner le couplage, dans nos analyses, des composantes N1-P1 et N2-P2 du potentiel de champ préfrontal. Notre hypothèse est que si une stimulation téτανique du MD induit une potentialisation ou une dépression de la composante N2-P2 alors que la même stimulation produit des changements opposés de l'amplitude de la composante N1-P1, le type de plasticité ayant lieu (potentialisation ou dépression) dans une des composantes pourrait masquer la plasticité concernant l'autre composante. De façon spécifique, dans la présente étude, les changements d'amplitude les plus importants induit par la SHF pourraient avoir masqué les autres

changements d'amplitude. Alternativement, bien que les causes directes déterminant la prédominance d'un type particulier de plasticité restent à déterminer, nous citerons les travaux de Artola et coll, (1990) mettant en évidence sur des coupes de cortex visuel que la polarité de la plasticité synaptique (potentialisation ou dépression) est dépendante du niveau d'activation postsynaptique. En effet, ces auteurs ont montré que les synapses actives ne sont pas modifiées à la suite d'une SHF si le niveau d'activation postsynaptique est faible alors qu'elles sont déprimées si le niveau d'activation postsynaptique est modéré et qu'elles sont potentialisées si le niveau d'activation postsynaptique est élevé. Si les composantes N1-P1 et N2-P2 correspondent, respectivement, aux réponses orthodromiques à faibles latences (correspondant à la transmission synaptique thalamo-corticale) et aux réponses antidromiques à plus grandes latences (correspondant à la transmission synaptique cortico-corticale), il est également possible de suggérer que la SHF du MD provoque une activation importante des neurones postsynaptiques de la voie thalamo-corticale (ce qui induirait une PLT), alors que la faible activation des neurones postsynaptiques de la voie cortico-corticale n'entraîne pas de modification de l'excitabilité synaptique préfrontale. En conséquence, la résultante observée (mesurée par les variations de l'amplitude de la composante N1-P2) serait une PLT.

3/ Plasticité transitoire

L'étude de la plasticité transitoire (ou plasticité à court terme) nous a permis de mettre en évidence une facilitation de la transmission synaptique préfrontale (PPF) pour des intervalles entre les deux chocs allant de 30 à 150 ms. Pour des intervalles plus longs (de 200 à 500 ms), aucune modification d'amplitude du complexe N1-P2 n'a été observée. De plus, l'induction d'une PLT ou d'une DLT dans le CPFm, par des stimulations appropriées du MD, induit respectivement une inhibition ou une augmentation (non significative) de cette facilitation.

L'hypothèse la plus courante concernant l'effet facilitateur de la procédure de PPF est celle du calcium résiduel (Katz et Miledi, 1968 ; Charlton et coll., 1982). Cette hypothèse postule que l'augmentation de la concentration calcique au niveau des zones d'exocytose, à la suite de l'arrivée à l'arborisation terminale d'une première volée de PA (par l'intermédiaire de l'ouverture des canaux calciques voltage-dépendants), diminue avec un décours temporel de quelques centaines de millisecondes. Si une deuxième dépolarisation se produit au cours de cette fenêtre temporelle, le flux calcique induit par la deuxième volée de PA s'ajoute au calcium résiduel (issu de la première volée de PA), ce qui a pour conséquence d'amener la concentration calcique intracellulaire à un

niveau plus élevé que la normale, avec une augmentation correspondante de la probabilité de libération du neurotransmetteur. Cette hypothèse a été récemment confirmée par Wu et Saggau (1994) qui ont mis en évidence une relation linéaire entre le pourcentage de facilitation et la concentration calcique résiduelle. Il est donc généralement admis que la facilitation induite par la procédure de PPF est d'origine présynaptique (Zucker, 1973, 1989 ; Wu et Saggau, 1994). Dans les travaux qui ont suivi, l'une des applications directes de la PPF a été d'évaluer l'origine pré ou postsynaptique de l'induction et/ou du maintien du phénomène de la PLT (Christie et Abraham, 1994 ; Schulz et coll., 1994 ; Wu et Saggau., 1994 ; Asztely et coll., 1996 ; Schulz, 1997 ; Commins et coll., 1998 ; Huang et Kandel, 1998). Le postulat majeur est que, si la PLT (ou facilitation durable) est d'origine présynaptique, sa mise en compétition avec un autre phénomène de facilitation d'origine présynaptique (la PPF) risque d'affecter l'amplitude soit de la PLT elle-même ou de la PPF (Anwyl et coll., 1989 ; Asztely et coll., 1990 ; Debanne et coll., 1996). La majorité des études sur cette question concerne la PLT hippocampique avec deux modèles principaux.

Le premier modèle concerne la PLT induite dans la voie gyrus dentelé-CA3 qui est d'origine présynaptique et indépendante des récepteurs NMDA (Bliss et Collingridge, 1993). L'étude de cette voie a permis de mettre en évidence une dépression de la PPF après induction de la PLT dans le CA3 par une stimulation appropriée des cellules granulaires du gyrus dentelé (fibres moussues) (Zalutsky et coll., 1990 ; Huang et Kandel, 1994 ; Weisskopf et coll., 1994).

Le deuxième modèle concerne la PLT induite au niveau du CA1 par la stimulation des collatérales de Schaffer (CA1). Etant donné que ce type de PLT est postsynaptique et dépendante de l'activation des récepteurs NMDA (Collingridge et coll., 1983 ; Chetkovitch et Sweatt, 1993) et que la PPF semble être un phénomène exclusivement présynaptique, une prévision possible est que la PPF ne doit pas être modifiée à la suite de l'induction de cette PLT. Les résultats obtenus sur ce modèle sont cependant contradictoires. En effet, certaines données mettent en évidence une dépression de la PPF après induction de la PLT (Christie et Abraham, 1994 ; Schulz e, 1994 ; Schulz, 1997), tandis que d'autres ne révèlent aucune dépression de la PPF (Gustafsson et coll., 1988 ; Muller et Lynch, 1989 ; Manabe et coll., 1993, Asztely et coll., 1996). Une explication possible de ces résultats contradictoires est que, bien que l'hypothèse du calcium résiduel puisse rendre compte en partie du phénomène de PPF, l'amplitude de ce phénomène pourrait être également modulée par l'activation de voies de signalisation d'origine postsynaptique, en particulier la voie de signalisation impliquant la calmoduline Kinase II dépendante du calcium (CaMKII). En effet, ces voies affectent la réponse des récepteurs AMPA (Wang et Kelly, 1996, 1997), en augmentant leur sensibilité ou encore en modulant l'activité de complexes protéiques impliqués

dans la mobilisation, l'accrochage et la fusion des vésicules synaptiques de manière à accroître l'exocytose au niveau présynaptique (Lynch et coll., 1994).

Il résulte de l'ensemble de ces observations que bien que, la PPF semble être un outil pertinent dans la détermination de l'origine postsynaptique du phénomène de PLT (si la PLT a une origine postsynaptique, aucune modification de la PPF n'est enregistrée), son utilisation dans la détermination de l'origine présynaptique de la PLT reste délicate. En effet, si la PPF est à la fois d'origine pré et postsynaptique, il semble difficile de postuler qu'une potentialisation synaptique associée à une dépression de la PPF soit relative à un site d'induction présynaptique (Wang et Kelly, 1996).

Nos résultats sur les synapses du CPFm suggèrent que la PLT préfrontale est, en partie, d'origine présynaptique. En effet, nous avons observé une importante dépression de la PPF après induction de la PLT pour les 4 intervalles (séparant les chocs) choisis. De plus, nous avons noté que l'amplitude de la PPF est inversement corrélée ($R = -0,901$) à l'amplitude de la PLT, ce qui suggère qu'une augmentation de l'amplitude de la PLT induit une diminution de l'amplitude de la PPF. Afin de vérifier cette hypothèse, il serait nécessaire de mener des études complémentaires, notamment par injection d'antagonistes des récepteurs NMDA tels que le D-AP5, un antagoniste compétitif qui ne modifie pas la transmission synaptique normale mais empêche l'induction de la PLT (Collingridge et coll., 1983) ou bien le MK801, un antagoniste agissant au niveau du canal ionique du récepteur NMDA (Coan et coll., 1987).

Bien que des analyses similaires concernant la DLT soient peu nombreuses (Gyory et coll., 1996 ; Berreta et Cherubini, 1998), nous avons tenté d'évaluer l'influence de l'induction de la DLT préfrontale sur l'amplitude de la PPF. Nous n'avons noté aucune différence entre les amplitudes de la PPF mesurée avant l'induction de la DLT et celles obtenues après l'installation de la DLT. De plus, les analyses corrélatives effectuées (corrélations entre l'amplitude de la DLT et celle de la PPF post-SBF) révèlent un facteur de corrélation négatif ($R = -0,924$), ce qui indique que l'amplitude de la PPF n'est pas influencée par la DLT. Ces résultats nous permettent d'envisager une induction postsynaptique du phénomène de DLT. Des résultats similaires ont déjà été observés au niveau hippocampique. En effet, certains auteurs (Derrick et Martinez, 1996 ; Gyory et coll., 1996) mettent en évidence une induction postsynaptique de la DLT au niveau des fibres moussues hippocampiques. De façon analogue, l'existence d'une DLT dépendante des récepteurs NMDA et impliquant un signal calcique a été démontrée au niveau du cortex moteur de rat, ce qui suggère un site d'induction postsynaptique de cette DLT (Castro-Alamancos et coll., 1995).



IV / PLASTICITE SYNAPTIQUE PREFRONTALE ASSOCIEE AU CONDITIONNEMENT DE LA PEUR ET SON EXTINCTION.

Les réponses comportementales de peur peuvent être acquises et disparaître à la suite de deux situations expérimentales : le conditionnement aversif et l'extinction de la peur apprise. Au cours du conditionnement aversif, un stimulus neutre, tel qu'un son, devient un stimulus conditionnel (SC) capable d'entraîner une réponse conditionnée (RC, par exemple la réponse émotionnelle conditionnée d'immobilisation : RECI), à la suite de son appariement avec un stimulus inconditionnel aversif (SI), tel qu'un choc électrique. Au contraire, au cours du protocole d'extinction de la peur apprise, les réponses acquises diminuent progressivement lorsque le SC est présenté seul de façon répétitive (absence de renforcement). Parmi les hypothèses alternatives, présentées dans l'introduction générale de cette thèse, quant aux mécanismes comportementaux impliqués dans le phénomène d'extinction de la peur apprise, il semble probable que le phénomène d'extinction de la peur apprise s'explique par un nouvel apprentissage plutôt que par la suppression de l'association SC-SI liée au conditionnement aversif (Konorski, 1948 ; Bouton et Bolles, 1979 ; Bouton et King, 1983 ; Brooks et Bouton, 1994 ; Wilson et coll., 1995). Etant donné d'une part, que l'élimination de la RC correspond à la formation d'une nouvelle trace mnésique et d'autre part que de nombreux auteurs suggèrent que les phénomènes de plasticité synaptique sous-tendent la formation de ces nouvelles traces mnésiques (Lynch et Baudry, 1984 ; Teyler et DiScenna, 1984 ; Martinez et Derrick, 1996 ; Martin et coll., 2000), nous pouvons émettre l'hypothèse que l'extinction de la peur apprise s'accompagne de modifications d'efficacité synaptique au niveau des structures impliquées dans cette forme d'apprentissage. Partant du constat que les modifications d'efficacité synaptique de type PLT (ou PLT comportementale) sont dans de nombreux cas dépendantes des récepteurs NMDA (dont l'activation induit une augmentation calcique intracellulaire), Falls et ses collaborateurs, (1992) ont d'établi une relation étroite entre la plasticité synaptique et l'extinction de la peur apprise en montrant que le blocage des récepteurs NMDA amygdaliens empêche l'extinction de la peur apprise chez des rats préalablement conditionnés à un SC sonore.

L'une des difficultés pour mener à bien des travaux sur la relation entre la plasticité synaptique et l'extinction réside fondamentalement dans la faible connaissance actuelle des supports neuroanatomiques interagissant avec le complexe amygdalien. L'une des structures potentielle est le CPFm, qui attire particulièrement l'attention de nombreux chercheurs compte tenu de son implication dans les mécanismes de *désapprentissage* de certaines tâches n'ayant pas ou très

peu de caractère aversif (Fuster, 1989). En effet, les lésions de cette structure engendrent la persistance des réponses apprises même quand celles-ci deviennent inutiles et doivent disparaître pour des raisons d'adaptation aux contraintes en cours (Hauser, 1999). De même, dans le domaine du conditionnement aversif, il a été observé que l'extinction de la RECI peut être difficile à obtenir chez des rats porteurs de lésions du CPFm (Morgan et coll., 1993 ; Morgan et LeDoux, 1995). Ce phénomène de persistance de la RECI, malgré de nombreuses présentations du SC seul, a été qualifié de *persévération émotionnelle* (Morgan et coll., 1993). Bien que la *persévération émotionnelle* n'ait pas été confirmée par d'autres travaux (Gewirtz et coll., 1997 ; Vouimba et coll., 2000), nous ne pouvons pas écarter complètement le développement d'un pattern particulier de plasticité synaptique préfrontale au cours de l'apprentissage de l'extinction de la peur apprise. Compte tenu de l'implication cognitive du CPFm dans de nombreuses tâches d'apprentissage (Fuster, 1989), la plasticité synaptique préfrontale relative à l'expérience aversive pourrait avoir une fonction cognitive que les approches expérimentales utilisées par Gewirtz et coll., (1997) et Vouimba et coll., (2000) n'ont pas pu révéler. Cette idée est partiellement soutenue par des données neurophysiologiques qui mettent en évidence, aussi bien chez l'être humain (Bremner et coll., 1999 a, b) que chez l'animal (Garcia et coll., 1999), une dépression de l'activité neuronale préfrontale en présence d'un SC aversif, et qui suggèrent que cette dépression, bien qu'étant modulée par l'amygdale, pourrait avoir un rôle cognitif (Garcia et coll., 1999). Si tel est le cas, sachant que le seuil de déclenchement du conditionnement aversif semble être beaucoup plus bas sur le plan émotionnel que cognitif (Esteves et coll., 1994 ; Whalen et coll., 1998 ; Katkin et coll., 2001), on peut s'attendre à ce qu'un faible conditionnement (nombre réduit d'associations SC-SI) puisse induire, lors de la présentation du SC seul, des modifications comportementales (RC) sans entraîner de modifications d'efficacité synaptique préfrontale. La dépression de l'excitabilité préfrontale n'apparaîtrait dans ce cas qu'à partir d'un seuil supérieur de conditionnement (nombre plus important d'associations SC-SI). De plus, en se basant sur les données récentes de Neumann et coll., (1997) qui montrent que l'élimination de la peur apprise chez l'être humain est plus rapide sur le plan cognitif qu'émotionnel (plus précisément, l'individu exposé aux présentations non renforcées du SC cesse rapidement d'attribuer au SC sa propriété prédictive, alors que la disparition des RC est beaucoup plus lente), on peut s'attendre à ce qu'au cours de l'extinction de la peur apprise, la dépression de l'excitabilité préfrontale disparaisse bien avant l'extinction totale des RC. Nous supposons la possibilité de telles dissociations chez la souris, en postulant, d'une part que, *si le seuil de déclenchement du conditionnement aversif est plus bas sur le plan émotionnel que cognitif, la dépression de l'excitabilité préfrontale n'apparaîtrait qu'à partir d'un seuil élevé de*

conditionnement et d'autre part que, *si la plasticité synaptique dans le CPFm code l'aspect cognitif de l'extinction, des modifications d'efficacité synaptique devraient apparaître indépendamment du décours temporel de l'extinction de la RECI*. Toutefois, une dissociation entre les mécanismes cognitifs et émotionnels de l'extinction de la peur apprise n'exclut pas pour autant le développement d'une interaction entre ces mécanismes (comme nous le verrons dans les chapitres suivants).

Dans ce travail, nous avons d'abord évalué si la dépression d'excitabilité préfrontale en présence d'un SC aversif dépendait d'un seuil de conditionnement supérieur au seuil d'induction de la RECI (Expérience I). Puis nous avons évalué l'évolution de la plasticité synaptique préfrontale au cours de l'extinction de la peur apprise (Expérience II : expérience principale). Dans l'expérience I, les souris ont été conditionnées avec un nombre variable d'associations « son-choc » puis exposées au SC seul (4 présentations) 24 h plus tard. Dans l'expérience II, les souris ont été conditionnées avec un nombre¹ constant d'associations « son-choc » puis exposées au SC seul 24 h et 48 h plus tard (25 présentations par séance, protocole d'extinction de la peur apprise). L'enregistrement des potentiels de champ préfrontaux (évoqués par la stimulation du MD), à différents stades des expériences, a permis d'évaluer les modifications d'efficacité synaptique préfrontale.

A/ Expérience I : effets du nombre d'associations son-choc sur le niveau d'expression de la RECI et le degré de plasticité synaptique préfrontale.

Dans le but d'évaluer, bien qu'indirectement, la nature cognitive de la plasticité synaptique préfrontale associée à l'expérience aversive elle-même pour ensuite analyser la plasticité associée à l'extinction de la peur apprise (Expérience II), nous avons utilisé une démarche expérimentale basée sur le degré du conditionnement aversif. Pour cela, nous avons utilisé quatre groupes d'animaux soumis à un conditionnement avec différents nombres d'associations « son-choc » (0, 2, 4 et 10 associations). La RECI et les changements d'efficacité synaptique préfrontale ont été évalués pendant les tests de présentations du SC sonore seul.

1/ Matériel et méthodes

- Les animaux

¹ Un nombre capable d'induire une dépression significative de l'excitabilité préfrontale a été choisi.

Vingt-quatre souris mâles consanguines de la lignée C57BL/6 JICO (IFFA-CREDO, Lyon), âgées de 16 semaines au moment de l'expérimentation, ont été utilisées. Le poids des souris est compris entre 25 et 30 grammes au moment des opérations chirurgicales. Une semaine avant les opérations, les animaux sont isolés individuellement dans des cages en Plexiglas et soumis à un cycle d'alternance lumière/obscurité de 12h/12h.

- Les opérations chirurgicales

Les animaux sont anesthésiés par utilisation d'avertine (l'élaboration de la solution finale est décrite dans le chapitre II ; 10 ml/kg, i.p) avant d'être implantés ipsilatéralement (hémisphère cérébral gauche) avec des électrodes en platine-iridié (90-10 %) de 90 μ m de diamètre. Les électrodes sont isolées, excepté à leur extrémité, et positionnées dans le MD (électrode de stimulation : 0,8 mm postérieurement au Bregma et 0,3 mm latéralement) et dans le CPFm (électrode d'enregistrement : 2,4 mm antérieurement au Bregma et 0,4 mm de latéralité). Un fil d'argent, fixé à une vis crânienne, sert d'électrode de référence. Toutes les électrodes sont alors maintenues sur leur site avec du ciment dentaire fixant la base de leurs supports (connecteurs) sur l'os crânien. Les animaux sont ensuite replacés dans l'animalerie pour une période de récupération d'au moins 5 jours.

- Protocole expérimental

Cinq jours après la phase opératoire, les animaux sont habitués au transport de l'animalerie à la pièce expérimentale, et à la connexion / déconnexion de leur tête au dispositif électrophysiologique pendant une période de 4 jours. Les réponses référentielles sont alors établies sur une période de 2 jours (1 séance d'enregistrement par jour ; chaque jour, une réponse référentielle moyenne est obtenue à partir de 7 réponses recueillies à la fréquence de 0,2 Hz). Une troisième séance d'enregistrement est effectuée 5 jours plus tard afin de vérifier la stabilité des réponses préfrontales avant de procéder au conditionnement. Les animaux sont ensuite divisés en 4 groupes pour la séance de conditionnement. Le premier (groupe 10 SC-SI, n = 6), le deuxième (groupe 4 SC-SI, n = 6) et le troisième groupe (groupe 2 SC-SI, n = 6) reçoivent respectivement 10, 4 et 2 présentations du couple « son-choc », le dernier groupe (ou groupe contrôle, n = 6) ne reçoit aucun stimulus. Pour l'ensemble des protocoles de conditionnement utilisés, le SC est un son de 2500 Hz, de 80 dB et d'une durée de 20 s, tandis que le SI est un choc électrique d'une intensité de

0,9 mA et d'une durée de 1 s. L'intervalle entre les présentations du couple SC-SI varie de 20 à 180 s. Afin d'évaluer les effets du nombre de présentations couplées SC-SI sur les paramètres comportementaux et électrophysiologiques mesurés (respectivement : le niveau d'expression de la RECI et les changements d'amplitude du complexe N1-P2), nous avons testé les animaux 24 heures après le conditionnement dans un contexte différent (contexte d'extinction décrit précédemment dans le chapitre II) en présentant le SC sonore seul (nombre de présentations : 4 ; intervalle inter-présentations : 20-180 s). Les analyses histologiques, électrophysiologiques et comportementales sont identiques à celles décrites précédemment (chapitre II).

2/ Résultats

- Histologie

Les analyses histologiques révèlent que tous les animaux utilisés (n = 24) présentent des sites d'implantation des électrodes de stimulation et d'enregistrement similaires à ceux présentés dans la figure (**Figure IV-3**).

- Comportement

Le résumé des résultats comportementaux est présenté sur la **Figure IV-1A**. Les animaux des 3 groupes conditionnés (*10 SC-SI*, *4 SC-SI* et *2 SC-SI*) présentent un niveau élevé de RECI, alors que les animaux non conditionnés (groupe contrôle) présentent un faible niveau d'immobilisation aux présentations sonores. L'analyse statistique indique une différence significative entre chacun de ces groupes et le groupe contrôle (toutes les valeurs de $p < 0,001$). De plus, le groupe *10 SC-SI* présente un niveau de RECI significativement plus élevé comparé aux deux autres groupes conditionnés (*10 SC-SI* versus *4 SC-SI* : $F_{1,11} = 8,94$, $p < 0,05$; *10 SC-SI* versus *2 SC-SI* : $F_{1,9} = 30,05$, $p < 0,001$). Par contre, les groupes *4 SC-SI* et *2 SC-SI* ne diffèrent pas entre eux ($F < 1$).

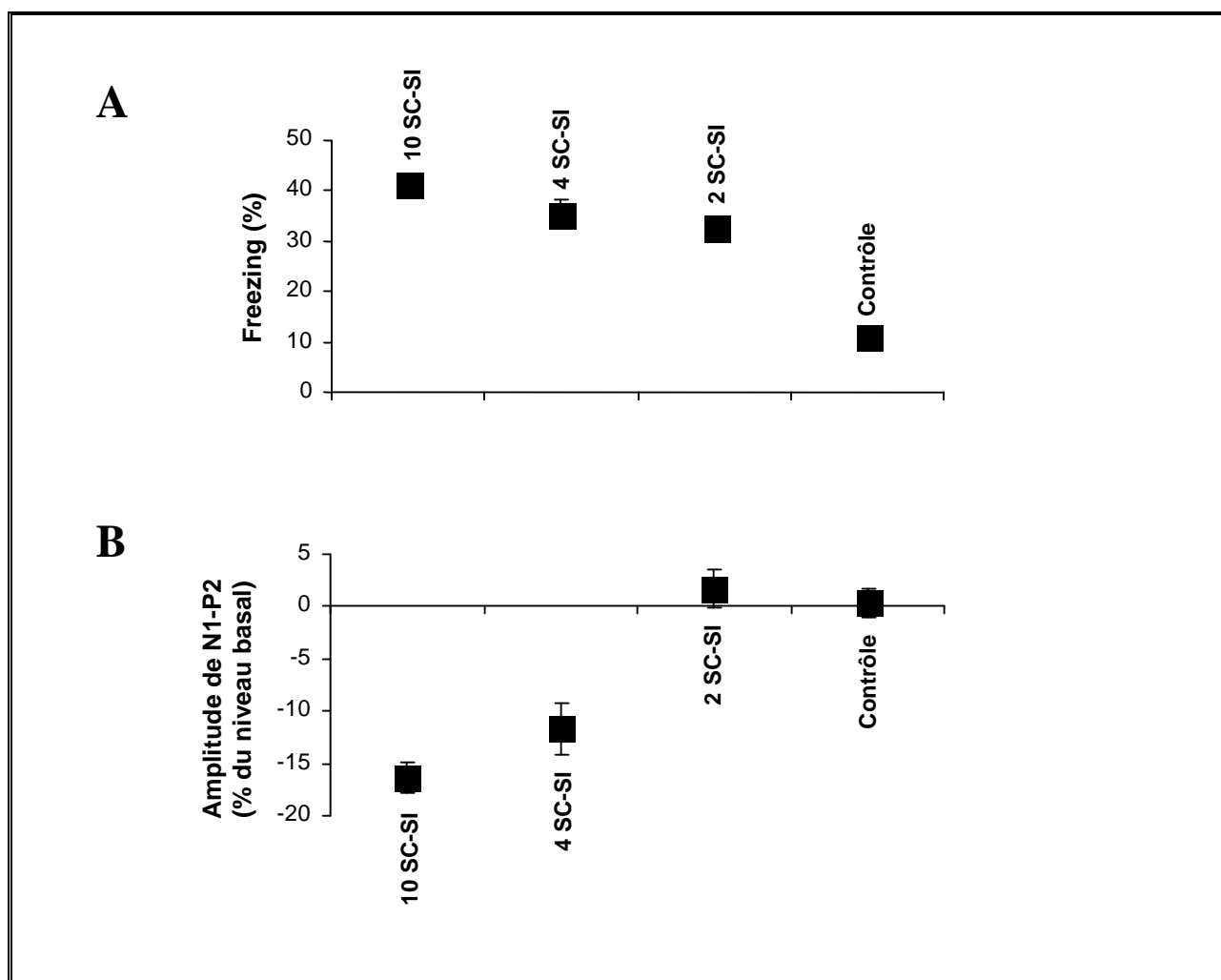


Figure IV-1 : Effets du nombre d'associations « son-choc » sur la RECI (« freezing») (A) et sur l'efficacité synaptique préfrontale (B) lors des tests de présentations sonores. Un conditionnement important (4 ou 10 associations SC-SI) se caractérise à la fois par un fort taux de RECI et une forte dépression de l'efficacité synaptique préfrontale (changement de l'amplitude de la composante N1-P2 par rapport au niveau basal). Cependant, un conditionnement plus faible (2 associations SC-SI) aboutit à l'acquisition d'une RECI au son similaire à celle de la situation 4 SC-SI, tandis que le niveau d'excitabilité préfrontale est similaire à celui du groupe contrôle (absence de dépression).

- Electrophysiologie

Les résultats électrophysiologiques sont résumés sur la **Figure IV-1B**. Les souris du groupe 10 SC-SI présentent une diminution significative de l'amplitude du complexe N1-P2 du potentiel de champ préfrontal en comparaison aux animaux du groupe 2 SC-SI ($F_{1,9} = 25,80$, $p < 0,001$) et du groupe contrôle ($F_{1,9} = 25,29$, $p < 0,001$). Cependant, les groupes 10 SC-SI et 4 SC-SI ne diffèrent pas entre eux. Nous notons également que l'amplitude du complexe N1-P2 reste au niveau basal

chez les souris du groupe 2 SC-SI. De plus, le niveau d'efficacité synaptique préfrontale de ces animaux ne diffère pas de celui des animaux du groupe contrôle ($F < 1$).

Dans leur ensemble, ces données indiquent, sur le plan comportemental, qu'un faible nombre d'associations SC-SI (2-4) induit un niveau important de RECI. Cependant, ce niveau de RECI devient encore plus important lorsqu'un nombre plus grand d'associations SC-SI (10) est utilisé. Sur le plan électrophysiologique, nos données montrent également que le degré de la dépression de l'excitabilité préfrontale en présence du SC varie en fonction du nombre d'associations SC-SI. En effet, plus ce nombre est important (> 2), plus la dépression de l'excitabilité préfrontale est importante. Toutefois, et contrairement aux données comportementales, si le nombre d'associations SC-SI est faible (≤ 2), aucune modification électrophysiologique pertinente ne s'observe au niveau préfrontal.

B/ Expérience II : étude de l'évolution des modifications des réponses évoquées thalamo-préfrontales au cours de l'extinction de la peur apprise.

La démonstration de l'existence de phénomènes de plasticité synaptique à court terme comme à long terme au niveau du CPFm à la suite de stimulations appropriées du MD (voir chapitre précédent), ainsi que la possibilité d'une relation entre la plasticité synaptique préfrontale et les aspects cognitifs du conditionnement de la peur (voir Expérience I), nous conduisent à suggérer que des modifications « cognitives » à court terme ou à long terme de l'efficacité des synapses préfrontales peuvent prendre place au cours d'une tâche d'extinction de la peur apprise. Au cours de cette expérience, nous nous sommes axés sur la démonstration de tels phénomènes chez des animaux ayant préalablement été conditionnés à présenter une RECI en réponse à un SC sonore.

1/ Matériel et méthodes

- Les animaux

Quinze souris mâles consanguines, de la lignée C57BL/6 JICO, provenant du centre d'élevage IFFA-CREDO (Lyon) et âgées de 12 semaines au moment de l'expérience, ont été utilisées. Le poids des souris est compris entre 28 et 32 grammes au moment des opérations. Les conditions d'entretien sont similaires à celles exposées au Chapitre II (voir aussi Expérience I).

- Les opérations chirurgicales

Les animaux sont implantés sous anesthésie générale, réalisée par injection intrapéritonéale d'avertine (10 ml/kg, i.p). Pour chaque implantation, une opération chirurgicale conventionnelle est utilisée. Un fil d'argent relié à une vis, fixée à l'os crânien, sert d'électrode de référence. Les électrodes de stimulation et d'enregistrement sont composées, comme dans les expériences précédentes, de deux fils de platine-iridié (90-10%), isolés (diamètre total de chaque fil : 90 µm) excepté à leur extrémité. Elles sont respectivement positionnées dans le MD (0.8 mm postérieurement au bregma et 0.3 mm de latéralité) et dans le CPFm (2.4 mm antérieurement au bregma et 0.4 mm de latéralité) aux profondeurs générant une amplitude optimale du potentiel de champ (Herry et coll., 1999 ; Herry et Garcia, 2002). L'ensemble du système (connecteurs, avec les électrodes et les vis) est alors fixé sur l'os crânien avec du ciment dentaire, formant ainsi la têtère de l'animal. Après les opérations, les animaux sont replacés dans leur cage d'élevage à l'animalerie pour une période minimale de 5 jours de récupération.

- Protocole expérimental

Les animaux sont manipulés quotidiennement au cours des trois jours qui précèdent le début des expériences. Ils sont ensuite habitués au transport de l'animalerie à la pièce expérimentale ainsi qu'à la connexion et déconnexion de leur têtère au dispositif électrophysiologique. Une réponse basale (réponse caractéristique, et d'une grande stabilité, évoquée au niveau du CPFm par la stimulation du MD) est établie pendant 3 jours (J1 à J3) à raison d'une séance d'enregistrement par jour². Cinq jours plus tard, un quatrième enregistrement est effectué (J8) avant le début du conditionnement au son afin de tester la stabilité des réponses électrophysiologiques. Pour la suite de l'expérimentation nous avons conservé les animaux (n=7) présentant des enregistrements d'une grande stabilité.

Comme nous le précisons dans le chapitre II (Méthodologie générale), les protocoles expérimentaux concernant le conditionnement aversif et l'extinction de la peur apprise diffèrent sensiblement d'une expérience à l'autre pour répondre de façon spécifique aux questions posées. Au cours de cette expérience, et immédiatement à la suite du 4^{ème} enregistrement électrophysiologique

² Dans cette expérience une séance d'enregistrement électrophysiologique correspond à l'enregistrement de 5 potentiels de champ à la fréquence de 0,2 Hz. Les 5 réponses ne doivent pas varier les unes par rapport aux autres de plus de 10 % afin d'établir la réponse basale, qui est la moyenne des 5 réponses de chaque séance d'enregistrement.

pré-conditionnement (J8), les animaux sont placés dans le contexte de conditionnement³ où ils reçoivent deux minutes plus tard une série de 5 présentations couplées *son* (SC : 2500 Hz, 80 dB, 20 s) - *choc* (SI : 0.9 mA, 1 s), l'intervalle entre ces présentations couplées variant de 60 à 120 secondes. Ce protocole est reproduit le jour suivant (J9). Vingt-quatre heures plus tard les animaux sont soumis au protocole d'extinction (présentations du SC seul : 2500 Hz, 80 dB, 20 s) qui dure deux jours consécutifs (J10 et J11). L'extinction, qui est effectuée dans un contexte différent⁴ de celui du conditionnement, est réalisée avec 25 présentations du SC (intervalles inter-présentations variant de 20 à 80 secondes) à chaque séance. Le protocole est schématisé ci-dessous (**Figure IV-2**).

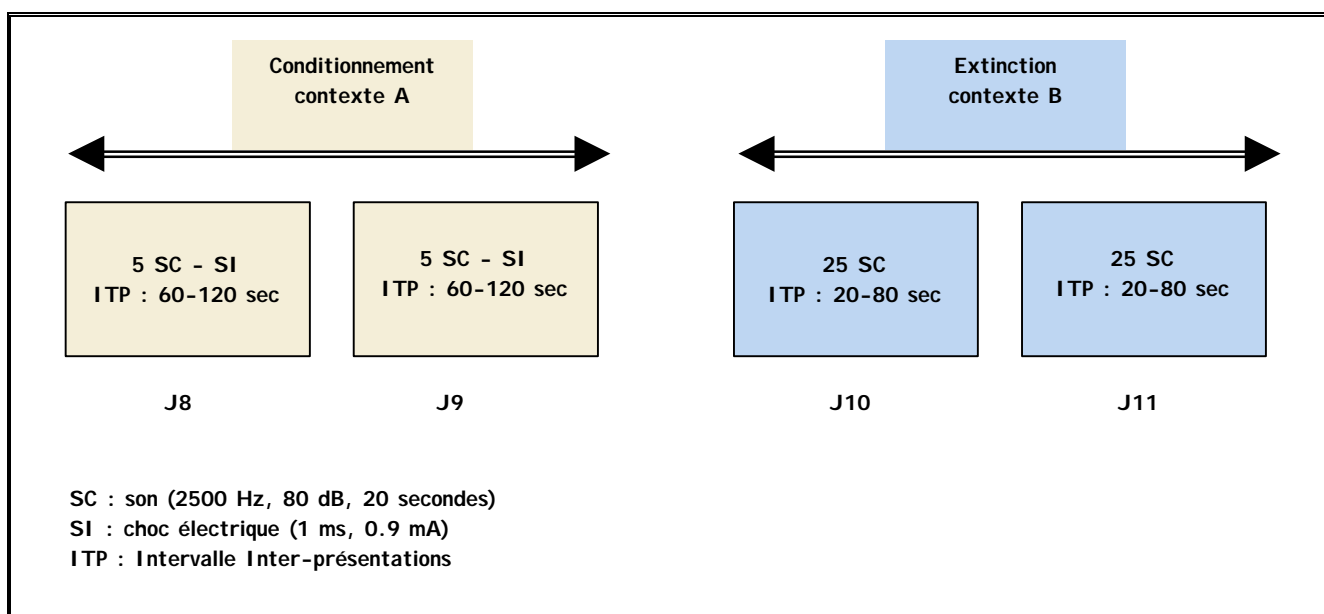


Figure IV-2 : Protocole expérimental concernant la deuxième expérience.

Les enregistrements électrophysiologiques post-conditionnement sont effectués avant chaque séance d'extinction (J10 et J11), au cours de chaque présentation du son seul (extinction) et également 24 heures après la dernière séance d'extinction (J12). Les analyses comportementales, électrophysiologiques et histologiques ont déjà fait l'objet d'une description détaillée dans le chapitre II (Méthodologie générale).

³ Pour rappel, le contexte de conditionnement se compose d'un cylindre gris en PVC (15,5 cm de diamètre x 14 cm de hauteur), qui constitue les parois verticales du contexte de conditionnement, ainsi qu'une grille, servant de plancher par lequel les chocs sont administrés, composée de barreaux en acier inoxydable (2 mm de diamètre, disposés parallèlement). La luminosité (40 lux) et le produit de nettoyage (alcool à 70 %) diffèrent de ceux utilisés pour l'extinction.

⁴ Le contexte d'extinction est dépourvu du cylindre gris en PVC et de la grille sur le plancher (qui est en fait recouverte par une plaque grise en PVC). La luminosité ambiante est plus forte (80 lux), une solution d'acide acétique à 1% est utilisée pour le nettoyage avant et après chaque séance d'extinction. Il est à noter que c'est dans ce contexte que se déroule également l'ensemble des enregistrements électrophysiologiques.

2/ Résultats

- Histologie

Les analyses histologiques effectuées à la fin de l'expérimentation révèlent que tous les animaux retenus sur des critères électrophysiologiques (notamment la qualité et la stabilité des enregistrements lors de l'établissement des réponses basales ; $n = 7$) présentent un positionnement correct des électrodes d'enregistrement dans l'aire prélimbique du CPFm (**Figure IV-3A**) et des électrodes de stimulation dans la partie médio-dorsale du thalamus (**Figure IV-3B**).

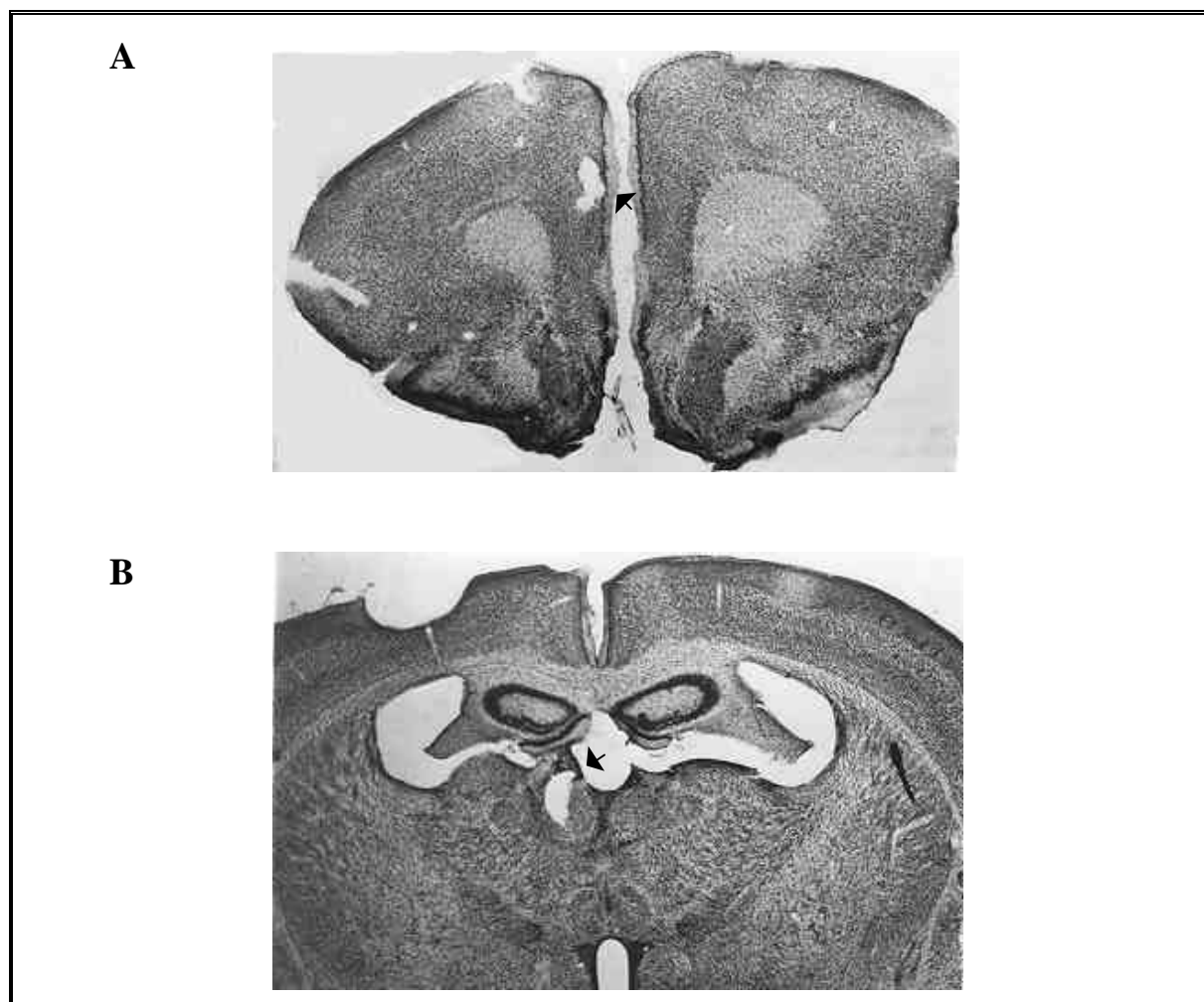


Figure IV-3 : Photographies mettant en évidence la localisation des pointes des électrodes (flèches noires) d'enregistrement dans le CPFm (A), et de stimulation dans le MD (B).

- Electrophysiologie

La **Figure IV-4** met en évidence les modifications de la réponse évoquée thalamo-préfrontale au cours de l'extinction de la réponse conditionnée. Le niveau d'excitabilité des synapses préfrontales, représenté par l'amplitude du complexe N1-P2 du potentiel de champ préfrontal, est stable au cours de l'établissement de la réponse basale ($F_{3,18} = 1,05$, ns). A la suite des deux jours de conditionnement, on observe une légère dépression non significative de l'amplitude du complexe N1-P2 (J10 enregistrement a). La présentation du SC au cours de la première séance d'extinction induit une dépression additionnelle significative de l'amplitude du complexe N1-P2 en comparaison au niveau observé avant le conditionnement (J10 enregistrement b versus J1-3 et J8 : $F_{4,24} = 13,9$, $p < 0,001$) et avant le début de l'extinction (J10 enregistrement b versus J10 enregistrement a : $F_{1,24} = 13,9$, $p < 0,001$). La dépression observée est suivie d'une récupération progressive mais non significative (J10 b-f) en comparaison au premier bloc d'enregistrements (J10 a). Le jour suivant (J11), une augmentation significative de l'amplitude du complexe N1-P2 est observée avant la séance d'extinction en comparaison au niveau basal (J11 enregistrement a : $F_{4,24} = 4,22$, $p < 0,01$). Les présentations du son au cours de cette deuxième séance d'extinction ne modifient pas de façon significative la potentialisation de l'efficacité synaptique préfrontale au regard de l'enregistrement effectué avant la séance d'extinction (toutes les valeurs de $p > 0,05$). La potentialisation de l'efficacité synaptique du CPFm est toujours présente et significative 24 heures après la deuxième séance d'extinction (J12 versus J8 : $F_{1,6} = 12,17$, $p < 0,01$). Les latences des ondes (N1, P1, N2 et P2) du complexe N1-P2 ne présentent aucune modification significative au cours de l'extinction de la peur apprise.

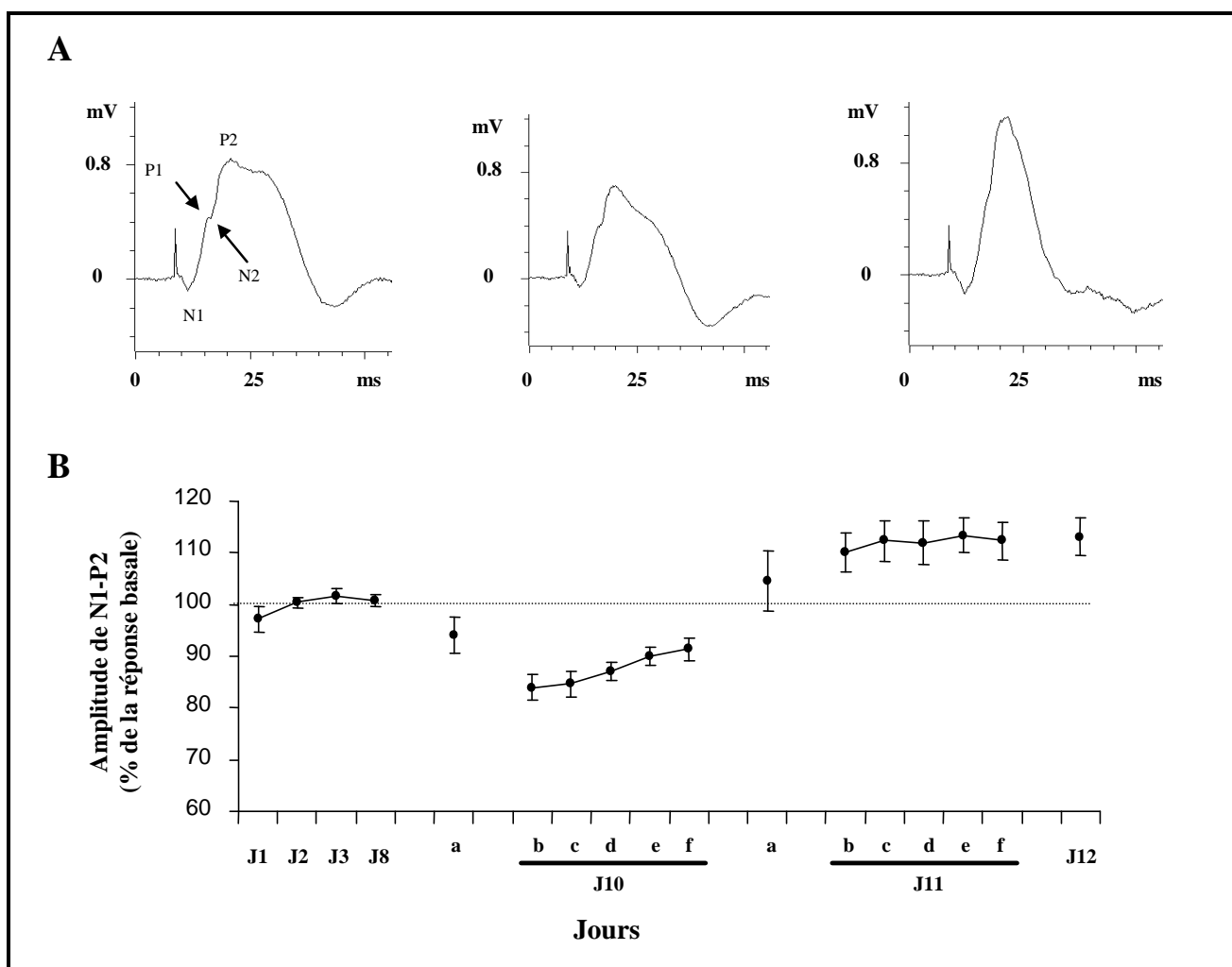


Figure IV-4 : **A** : Exemple représentatif des modifications du potentiel de champ enregistré avant (gauche), au cours de la 1^{ère} séance (milieu) et 24 heures après la dernière séance (droite) d'extinction de la peur apprise. Lorsque la dissociation entre les complexes N1-P1 et N2-P2 était possible, la séquence dépression-potentialisation était observée pour chaque complexe. **B** : Pourcentage moyen des changements de l'amplitude du complexe N1-P2 (\pm SEM) au cours des 3 jours d'établissement de la réponse basale (Jours J1-J3), avant le conditionnement (J8), avant chaque séance d'extinction (J10 a et J11 a), au cours des 2 séances d'extinction (J10 b-f et J11 b-f) et 24 heures après la dernière séance d'extinction (J12).

- Comportement

Les données comportementales (mesures de la RECI) sont représentées ci-dessous (**Figure IV-5**). A la suite des deux jours de conditionnement, la présentation du SC (J10 b-f) induit un niveau de RECI élevé en comparaison au niveau basal (J8 ; J10 b versus J8 : $F_{1,6} = 71,52$, $p < 0,001$). Le niveau de RECI diminue progressivement au cours des deux jours d'extinction. Une ANOVA en mesures répétées, effectuée sur J10 et J11 entre les 5 blocs de 5 présentations du SC

seul par séance, indique un effet significatif des blocs ($F_{9,54} = 4,04$, $p < 0,001$). Cependant, le niveau de RECI mesuré au cours du dernier bloc de présentations du SC seul (J11 f) demeure élevé en comparaison au niveau basal observé à J8 (J11 f versus J8 : $F_{1,6} = 8,96$, $p < 0,05$).

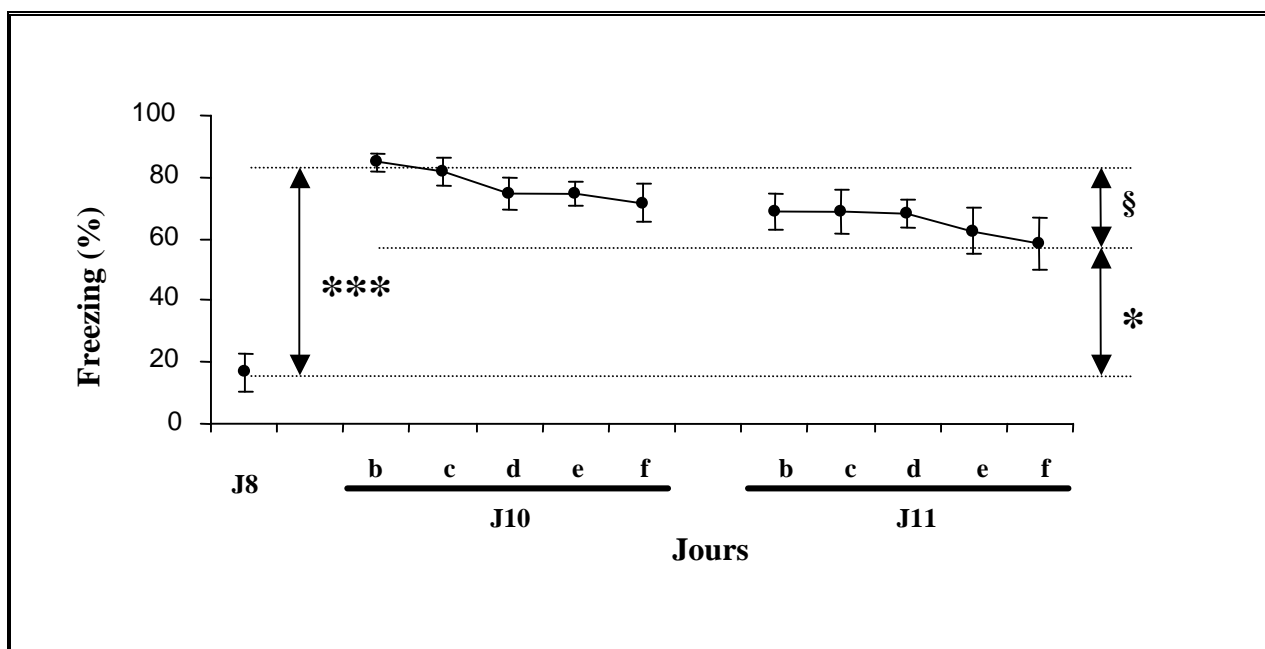


Figure IV-5 : Pourcentage moyen de RECI (\pm SEM) enregistré pendant les 20 premières secondes (correspondant à l'émission du son) de la première présentation couplée « son – choc » (J8) et au cours des deux séances d'extinction de la peur apprise (mesures post-conditionnement J10-J11). Les astérisques indiquent les différences significatives de la RECI en comparaison au niveau basal (J8) : * $p < 0,05$ et *** $p < 0,001$. § : différence significative ($p < 0,05$) entre le premier (J10 b) et le dernier bloc (J11 f) des séances d'extinction.

En résumé, l'ensemble des données de l'expérience II met en évidence une séquence dépression-potentialisation de l'efficacité des synapses glutamatergiques préfrontales au cours d'une tâche d'extinction de la peur apprise. Tout d'abord, à la suite des deux jours de conditionnement (associations son-choc), nous notons que la présentation du SC aversif entraîne chez tous les animaux une dépression de l'efficacité synaptique préfrontale (première séance d'extinction). Le jour suivant, nous notons une potentialisation de cette efficacité synaptique qui se maintient même lors de l'émission du SC aversif (deuxième séance d'extinction) à lors que le niveau de la RECI induite par le SC aversif reste encore élevé. Enfin, cette potentialisation est encore présente 24 heures plus tard. Il s'agit par conséquent de modifications de type PLT (ou PLT comportementale).

C/ Discussion

Les données issues de ces deux expériences indiquent, d'une part, que la RECI peut s'acquérir à la suite d'un faible conditionnement (deux présentations du couple SC-SI) qui n'entraîne, par contre, aucun changement électrophysiologique (absence de dépression de l'efficacité synaptique) dans le CPFm (Expérience I). La dépression de l'efficacité synaptique préfrontale n'apparaît qu'à partir d'un nombre plus important de présentations couplées SC-SI (> 2). D'autre part, l'extinction comportementale de la peur apprise (baisse progressive de la RECI) s'accompagne d'un changement de polarité de la plasticité synaptique préfrontale passant de la dépression à la potentialisation de l'efficacité synaptique (Expérience II).

1/ Plasticité associée au conditionnement de la peur

Des données récentes, obtenues aussi bien chez l'homme (Bremner et coll., 1999a,b ; Fernandez et coll., 2001), que chez l'animal (Garcia et coll., 1999), indiquent que certains neurones préfrontaux présentent une importante baisse d'activité en présence d'un stimulus conditionnel (SC) aversif. L'analyse des modifications d'activité neuronale préfrontale à la suite d'une procédure d'inhibition de la peur apprise montre également que le niveau de la dépression de l'excitabilité préfrontale se corrèle avec le niveau de la RECI acquise (Garcia et coll., 1999). En effet, l'utilisation d'un protocole d'inhibition conditionnée de la peur apprise, dans lequel un SC (SC1) n'est pas renforcé lorsque sa présentation est signalée par un autre SC (SC2), révèle que la présentation du couple SC2-SC1 réduit, avec les mêmes proportions, les effets comportementaux (RECI) et électrophysiologiques (baisse de l'activité préfrontale) associés au SC1 (Garcia et coll., 1999). Selon les auteurs, étant donné que les neurones du CPFm participent à de nombreuses fonctions cognitives, la dépression de l'activité des neurones du CPFm pourrait refléter le degré de prédictibilité du SC. Plus spécifiquement, un faible degré de prédictibilité, caractérisé par une RECI faible (cas de l'inhibition conditionnée), serait associé à une faible dépression de l'excitabilité préfrontale, alors qu'un fort degré de prédictibilité, caractérisé par une forte RECI, serait associé à une importante dépression de l'excitabilité préfrontale. Cependant, nos études sur le conditionnement de la peur (Expérience I) ne révèlent pas l'existence d'une relation aussi proportionnelle entre les variations de niveau de la RECI et celles de la dépression de l'excitabilité préfrontale. Nous constatons, en effet, que lorsque le seuil de déclenchement du conditionnement aversif est bas (deux présentations couplées SC-SI), il n'y a pas de dépression de l'efficacité

synaptique préfrontale, alors que l'expression de la RECI en présence du SC révèle bien l'acquisition du conditionnement de la peur. Nous constatons également que le niveau de la RECI des animaux ayant reçu 2 associations SC-SI est similaire à celui des animaux conditionnés avec 4 associations SC-SI. Cependant les animaux issus du groupe 4 SC-SI présentent une dépression de l'efficacité synaptique préfrontale. Nos observations comportementales et électrophysiologiques semblent en accord avec les données (Esteves et coll., 1994 ; Whalen et coll., 1998 ; Katkin et coll., 2001) qui suggèrent que le seuil de déclenchement du conditionnement de la peur est beaucoup plus bas sur le plan émotionnel que cognitif (ces seuils étant, dans notre cas, de 2 présentations SC-SI pour le conditionnement émotionnel et de 4 présentations SC-SI pour le conditionnement électrophysiologique). Par conséquent, malgré la différence de protocoles comportementaux [dans le premier cas (Garcia et coll., 1999), les animaux étaient initialement conditionnés avec un nombre important d'associations SC1-SI (10), l'expression de la peur apprise était ultérieurement modulée par la présence d'un stimulus inhibiteur (SC2) ; dans notre cas, le niveau d'expression de la peur est manipulé en fonction du nombre de présentations SC-SI], les deux études soutiennent l'idée de l'implication des neurones du CPFm dans la médiation des aspects cognitifs des situations émotionnelles.

2/ Plasticité associée à l'extinction de la peur apprise

Nous avons précédemment montré (Chapitre III) que des modifications de l'efficacité synaptique préfrontale (DLT ou PLT) pouvaient avoir lieu à la suite d'une stimulation à basse ou à haute fréquence du MD. Dans l'expérience II de ce chapitre, nous avons montré que de tels phénomènes pouvaient également se produire au cours de l'apprentissage du phénomène d'extinction de la peur apprise. En effet, à la suite des deux jours de conditionnement, tous les animaux présentaient une dépression importante de la transmission synaptique préfrontale au cours de la première séance d'extinction. Cependant, le jour suivant (deuxième séance d'extinction), nous avons observé une potentialisation de cette transmission synaptique, qui se maintient au moins pendant 24 heures.

Bien que nos travaux n'aient pas abordé l'étude des neurotransmetteurs impliqués dans ces changements (dépression et potentialisation) de l'efficacité synaptique préfrontale, il est raisonnable de penser que la dépression observée le premier jour d'extinction peut être générée au moins en partie par une activation dopaminergique préfrontale, et ce, pour les trois raisons suivantes. Premièrement, un stress psychologique (relatif à la perception d'un SC auditif) produit une

activation du système dopaminergique préfrontale (Goldstein et coll., 1996). Deuxièmement, la stimulation électrique des neurones dopaminergiques de l'aire tegmentale ventrale bloque les réponses excitatrices préfrontales évoquées par la stimulation du MD (Ferron et coll., 1984 ; Mantz et coll., 1988). Troisièmement, l'application de dopamine au niveau du CPFm entraîne une dépression de la transmission glutamatergique et diminue le seuil d'induction de la DLT des synapses glutamatergiques préfrontales (Otani et coll., 1998). Quant à la potentialisation, elle pourrait résulter de l'activation des neurones cholinergiques. En effet, certaines données de la littérature montrent que (i) la perception d'un stimulus anxiogène s'accompagne d'une activation des systèmes cholinergiques préfrontaux (Acquas et coll., 1996), (ii) cette activation cholinergique potentialise l'excitabilité préfrontale (Gioanni et coll., 1999) et (iii) l'élévation cholinergique préfrontale est relative à l'extinction de certains apprentissages (Izaki et coll., 2001). Cette hypothèse cholinergique est également appuyée par des travaux démontrant l'importance de ce système dans les processus cognitifs (pour revue, voir Everitt et Robbins, 1997).

Sur le plan fonctionnel, la dépression de la transmission synaptique préfrontale pourrait être due au traitement des informations cognitives relatives à l'occurrence d'un danger (voir aussi Garcia et coll., 1999). Cependant, au cours des présentations successives du SC seul, les animaux apprennent l'absence du danger (le SC perd progressivement sa capacité à prédire le SI), ce qui pourrait être associé à un changement de polarité de la plasticité préfrontale (passant de la dépression à la potentialisation de la force synaptique au cours du deuxième jour d'extinction). En nous basant sur l'expérimentation humaine (Neumann et coll., 1997), nous savons que l'acquisition de l'absence de renforcement se développe plus rapidement sur le plan cognitif qu'émotionnel. D'autre part, sachant que des changements de type PLT caractérisent la formation de la mémoire à long terme de certains apprentissages (Garcia et coll., 1993 ; Mitsuno et coll., 1994 ; Jaffard et coll., 1996), nous suggérons que la potentialisation durable de l'efficacité synaptique préfrontale – au cours de l'extinction de la peur apprise – contribue à l'établissement de la mémoire à long terme de l'acquisition de l'absence de danger, même si les réponses comportementales observées demeurent élevées.

Dans leur globalité, ces résultats suggèrent l'existence d'une dissociation entre le déroulement temporel des phénomènes de plasticité synaptique prenant place dans le CPFm et celui lié aux mécanismes émotionnels du conditionnement de la peur et de son extinction. Du point de vue fonctionnel, il semblerait que la plasticité synaptique préfrontale, relative à l'acquisition et l'extinction de la peur, reflète un traitement cognitif des informations acquises. Une telle

dissociation entre la plasticité synaptique, reflétant un traitement cognitif, et les mécanismes émotionnels a été également observée au cours d'autres travaux (voir particulièrement : Garcia et Jaffard, 1996 et Desmedt et coll., 1998).



***V / SIGNIFICATION FONCTIONNELLE DES CHANGEMENTS
D'EFFICACITE SYNAPTIQUE PREFRONTALE AU COURS DE
L'EXTINCTION DE LA PEUR APPRISE.***

Comme nous l'avons vu dans le chapitre précédent, l'extinction de la peur apprise s'accompagne d'une séquence de type « dépression-potentialisation » de l'efficacité synaptique préfrontale. Cette séquence, également observée chez l'homme (Fernandez et coll., 2001), soulève la question de sa signification fonctionnelle. En effet, de nombreuses données lésionnelles montrent aussi bien chez l'homme (Bechara et coll., 1999) que chez l'animal (Gewirtz et coll., 1997 ; Vouimba et coll., 2000), que le CPFm n'est pas indispensable à l'apprentissage de l'extinction de la peur apprise (disparition progressive des RC émotionnelles suite aux présentations répétées et non renforcées du SC). Toutefois, sachant que l'extinction des RC, comme certains autres apprentissages, implique la formation d'une mémoire à long terme (Pavlov, 1927), nous pouvons suggérer que les changements d'efficacité synaptique qui s'opèrent dans le CPFm participeraient davantage aux processus de consolidation qu'à ceux nécessaires à l'apprentissage de l'extinction des RC. Des données lésionnelles récentes (Quirk et coll., 2000) obtenues chez le rat soutiennent cette hypothèse. En effet, ces études montrent que les animaux ayant des lésions du CPFm font bien l'acquisition de la peur (conditionnement à présenter une RC (la RECI) à un SC sonore apparié à l'administration de chocs électriques) ainsi que son extinction. Cependant, la réexposition des animaux au SC sonore vingt-quatre heures après l'extinction totale de la peur apprise (caractérisée par l'abolition de la RECI), réactive la RECI à son niveau optimal, alors que cette réactivation est faible chez les animaux témoins¹. Ces données suggèrent que le retour des symptômes du conditionnement est systématique chez des animaux préfronto-lésés, alors qu'il ne touche qu'une partie des animaux témoins. Ce modèle animal (et plus précisément celui concernant les animaux non lésés) est en accord avec les données obtenues chez l'être humain suite à une thérapie comportementale (forme d'extinction de la peur apprise) ou thérapie d'exposition (Greist et coll., 1986). En effet, nous savons, que (i) des personnes exposées pendant des périodes prolongées à des événements traumatiques peuvent développer le syndrome de stress post-traumatique, (ii) les RC associées à ce conditionnement (par exemple, revivre continuellement l'expérience douloureuse, la peur et l'insomnie) sont facilement ranimées par des stimuli sensoriels et cognitifs relatifs au traumatisme originel ; et (iii) l'application d'une thérapie comportementale permet de réduire de

¹ Il est cependant important de noter qu'au cours de cette étude, les auteurs n'ont pas donné le pourcentage des animaux sains présentant un retour total de la peur apprise.

façon significative ces RC, voire même de les éliminer complètement (Deville et Spence, 1999 ; Tarrier et coll., 1999). Cependant, Tarrier et coll., (1999) notent le retour des symptômes associés à la peur apprise chez 40 % de la population soignée lors des contrôles réalisés un an plus tard. D'autres données cliniques suggèrent que ce retour des symptômes soit, du moins en partie, associé au dysfonctionnement des circuits neuronaux incluant le CPFm (Markowitsch et coll., 1988 ; Vasterling et coll., 1998 ; Bremner et coll., 1999a,b ; Moradi et coll., 1999 ; Fernandez et coll., 2001).

L'ensemble de ces données, expérimentales et cliniques, montre que (i) l'apprentissage de l'extinction de la peur apprise se développe bien au cours de la procédure d'extinction (apprentissage quantifié par la disparition des RC émotionnelles), mais que cet apprentissage n'est pas toujours suivi par la formation d'une mémoire à long terme des informations acquises (consolidation) et (ii) la *polarité* de la plasticité synaptique préfrontale (dépression ou potentialisation) pourrait moduler cette seconde phase.

Notre modèle animal paraît donc, en partie, adapté pour aborder expérimentalement la question de l'effet modulateur de la polarité de la plasticité synaptique préfrontale sur la consolidation de l'extinction. Sur le plan électrophysiologique, nous avons vu dans le chapitre III, que le niveau d'excitabilité des synapses glutamatergiques préfrontales peut être artificiellement manipulé (dépression ou potentialisation) avec des stimulations appropriées du MD. Sur le plan comportemental, nous savons que l'extinction de la peur apprise peut être suivie par (i) un retour des symptômes initialement éteints (absence de consolidation) ou (ii) un maintien de l'apprentissage (Quirk et coll., 2000). Par conséquent, nous pouvons d'une part, analyser les effets des changements artificiels d'efficacité synaptique préfrontale sur la consolidation de l'extinction et d'autre part, étudier les changements naturels de l'efficacité synaptique préfrontale qui accompagnent le maintien de l'extinction ou l'absence de ce maintien (caractérisée par un retour des RC lors des tests post-extinction). Pour cela, nous avons réalisé 3 types d'expériences. Dans l'expérience I, nous avons tenté d'évaluer l'effet d'une DLT sur la plasticité des synapses préfrontales au cours de l'extinction de la peur apprise. Dans l'expérience II, nous avons évalué l'effet d'un protocole induisant une résistance à l'extinction sur l'évolution de la plasticité préfrontale. Enfin, dans l'expérience III nous avons déterminé si une PLT préfrontale induite avant l'extinction de la peur apprise favorise le maintien à long terme de l'apprentissage (consolidation).

A/ Expérience I : étude des effets de la DLT sur l'extinction de la peur apprise.

Une des approches pour tenter de comprendre l'importance de la conversion de la dépression à la potentialisation du niveau d'excitabilité des synapses du CPFm dans le phénomène d'extinction de la peur apprise (voir expérience II du chapitre IV) consiste à montrer que le maintien artificiel de la phase de dépression, au cours de l'apprentissage de l'extinction, favorise le retour des RC à leur niveau optimal lors des séances ultérieures de présentations du SC seul. Pour cela, nous avons analysé les effets de l'induction d'une DLT de la transmission synaptique préfrontale, par une stimulation à basse fréquence du MD, sur les manifestations comportementales liées à l'extinction de la peur apprise.

1/ Matériel et méthodes

- Les animaux et les opérations chirurgicales

Dix-huit souris mâles consanguines de la lignée C57BL/6 ont été utilisées pour cette expérience. Les animaux proviennent du centre d'élevage IFFA-CREDO (Lyon) et sont âgés de 16 semaines au moment de l'expérimentation. Une description détaillée des conditions d'entretien des animaux et du protocole chirurgical est présentée dans le chapitre II.

- Protocole expérimental

A la suite de la période de récupération, les animaux sont habitués au transport de l'animalerie à la pièce expérimentale, à la connexion et à la déconnexion de leur têtère au dispositif de stimulation d'enregistrement électrophysiologique pendant une période 4 jours. Après cette phase dite d'habituation, la réponse de base est établie sur une période de 2 jours (1 séance d'enregistrement par jour : J1 et J2 ; chaque séance fournit une réponse moyenne établie à partir de 7 potentiels de champ enregistrés à 0.2 Hz). Six jours plus tard (J8), une troisième séance d'enregistrement est effectuée afin de vérifier la stabilité des réponses avant de procéder au conditionnement. Les souris sont alors placées dans la chambre de conditionnement et sont conditionnées suivant deux protocoles différents. Le groupe 1 est conditionné (4 présentations couplées SC-SI ; SC : son de 2500 Hz, 80 dB, 20 s, et SI : choc électrique de 0.9 mA, 1 s ; intervalle inter-présentations : 60-180 s) à exprimer la RECI au son. L'autre groupe, servant de contrôle

(groupe contrôle, $n = 5$), reçoit un nombre identique (c'est-à-dire, 4) de présentations du stimulus sonore (intervalle inter-présentations : 60-180 s) mais sans aucune présentation du SI (le choc électrique). Les jours suivants (J9, J10 et J11), chaque souris est placée dans le contexte d'extinction (nous rappelons que ce contexte est également utilisé pour tous les enregistrements électrophysiologiques ; voir chapitre II) dans lequel le son est présenté seul (4 présentations sonores par séance, intervalle inter-présentations : 60-180 s) dans le but d'induire une diminution progressive de la RECI. Afin d'étudier si le maintien artificiel de la dépression de la transmission synaptique préfrontale, par une stimulation à basse fréquence du MD, favorise le retour de la RECI à des niveaux optimaux, le groupe conditionné est alors divisé en deux sous-groupes. L'un des deux sous-groupes reçoit la stimulation à basse fréquence (SBF : un train de 1200 pulses à 2 Hz du MD), avant la deuxième (J10) et la troisième (J11) séance d'extinction (groupe SBF, $n = 6$). Aucun traitement particulier (stimulation à basse ou à haute fréquence du MD) n'est administré à l'autre groupe (groupe NSBF, $n = 7$). Les potentiels de champ préfrontaux obtenus par stimulation du MD sont recueillis (7 réponses enregistrées à 0.2 Hz) avant la première séance d'extinction, au cours de chaque présentation du son seul et 24 heures après la dernière séance d'extinction. Il est important de noter à ce niveau que les modifications du protocole expérimental (en comparaison à l'expérience II du chapitre IV) ont été apportées dans le seul but de prévenir le développement de changement de type PLT préfrontale entre les jours (ce point sera analysé plus profondément dans la discussion finale).

La **Figure V-1** résume le protocole expérimental.

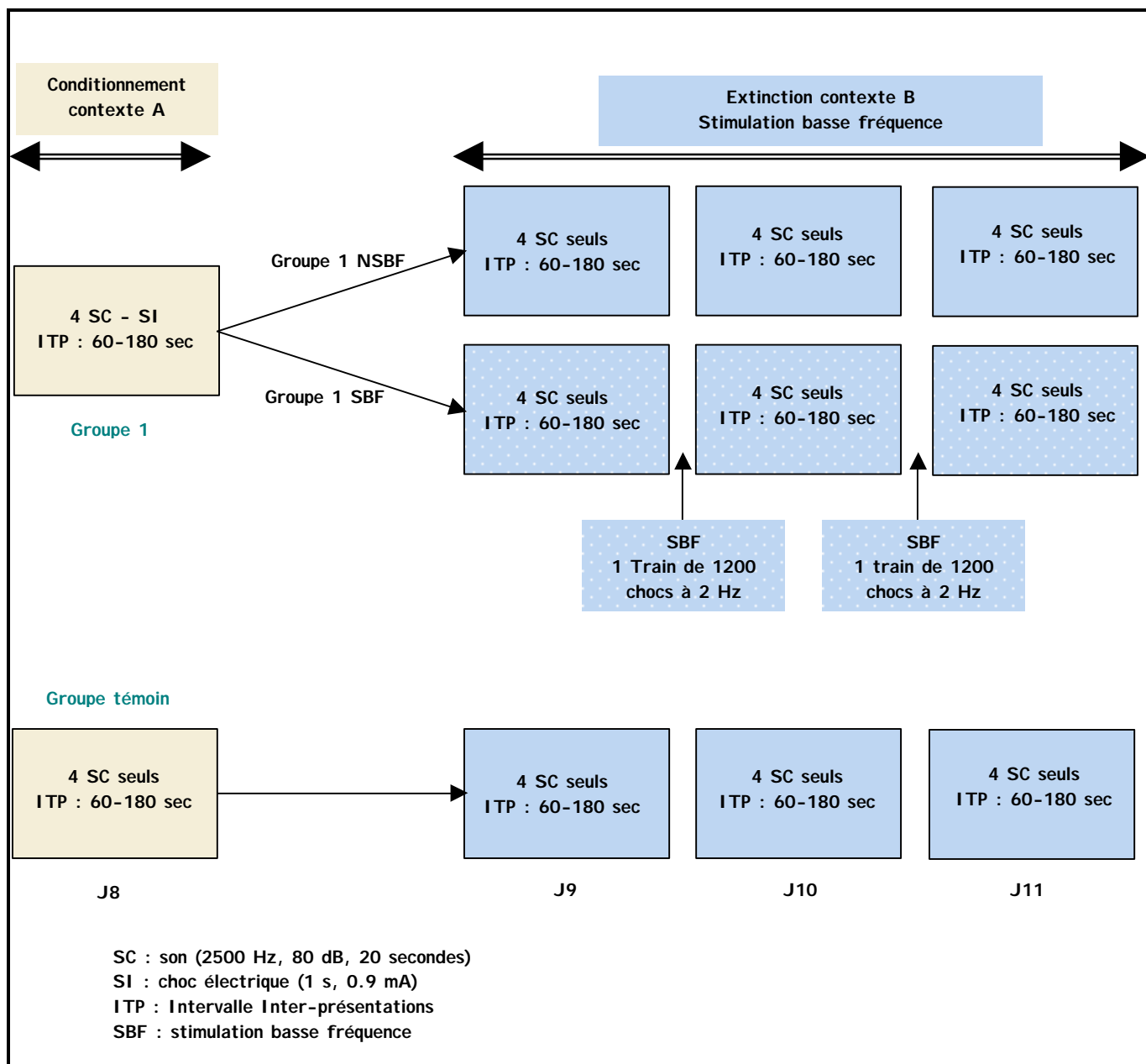


Figure V-1 : Protocole expérimental de l'expérience I.

- Analyses des données

Les analyses histologiques, électrophysiologiques et comportementales sont identiques à celles décrites précédemment (chapitre II).

2/ Résultats

- Histologie

Les analyses histologiques effectuées à la fin de l'expérimentation révèlent que tous les animaux (n = 18) présentent un positionnement correct des électrodes d'enregistrement, dans le CPFm (essentiellement au niveau de l'aire prélimbique), et de stimulation, dans le MD (**Figure V-2**).

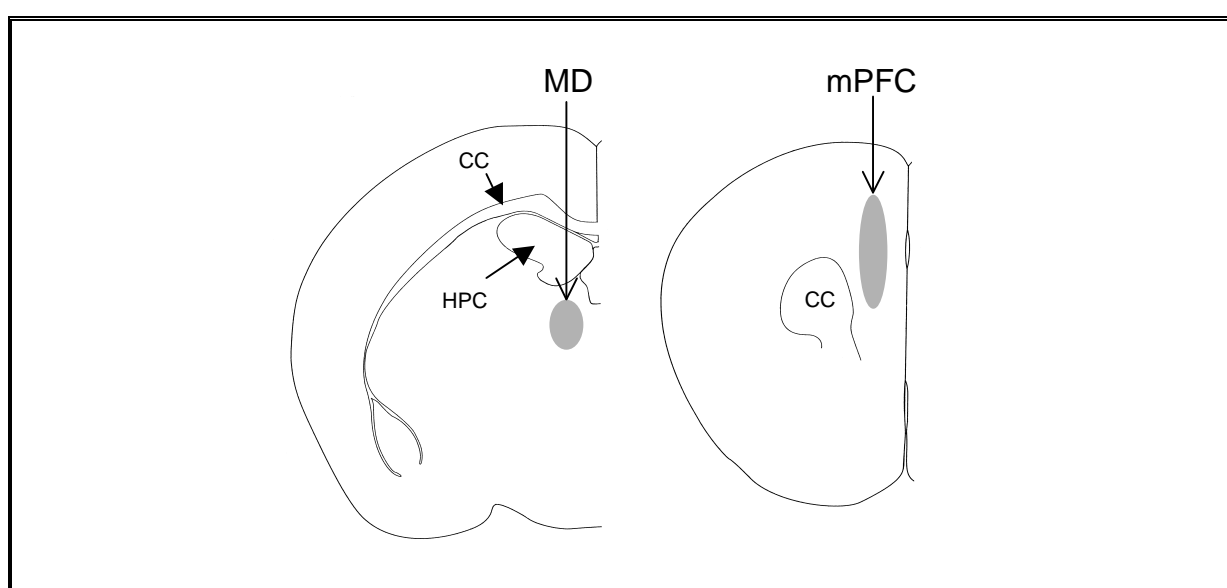


Figure V-2 : Schéma représentant la position des électrodes (zones en gris) au niveau du MD (schéma de gauche, électrodes de stimulation) et du CPFm (schéma de droite, électrodes d'enregistrement). CC : corps calleux, HPC : hippocampe dorsal.

- Electrophysiologie

Comme précédemment décrit dans le Chapitre III de cette thèse, la stimulation du MD évoque un potentiel de champ au niveau du CPFm caractérisé (**Figure V-3A**) par deux complexes initiaux (N1-P1 : 3-7 ms ; N2-P2 : 8-13 ms) suivis par deux autres complexes (P2-N3 : 13-18 ms ; P3-N4 : 20-33 ms). La plasticité de l'excitabilité synaptique préfrontale est mesurée à partir des changements d'amplitude de la composante N1-P2 (**Figure V-3A**), qui représente les changements de la probabilité de décharge des cellules préfrontales cibles (Herry et coll., 1999 ; Pirot et coll., 1994). L'amplitude de la composante N1-P2 demeure stable tout au long des trois jours

d'établissement de la réponse basale (**Figure V-3B**, J1-J8; $F_{2,34} = 0,63$). Les enregistrements électrophysiologiques effectués vingt-quatre heures après la séance de conditionnement révèlent chez tous les animaux conditionnés (**Figure V-3B**, J9, avant) une baisse non significative de cette amplitude ($F_{3,36} = 2,21$; ns). La présentation du stimulus sonore (sans renforcement : première séance d'extinction de la peur apprise) induit une diminution additionnelle et significative de l'amplitude de N1-P2 en comparaison aux valeurs de la réponse basale de chaque groupe (groupe NSBF : $F_{3,18} = 3,69$, $p < 0,05$; groupe SBF : $F_{3,15} = 4,05$, $p < 0,05$) et aux valeurs des animaux du groupe non conditionné (groupe NSBF : $F_{1,10} = 8,76$, $p < 0,05$; groupe SBF : $F_{1,19} = 12,06$, $p < 0,05$). Cet effet est suivi, chez les animaux du groupe NSBF, d'un retour progressif vers le niveau normal d'excitabilité synaptique au cours des deux séances suivantes d'extinction (J10 et J11). Ce changement de direction de la plasticité synaptique préfrontale n'est pas observé chez les animaux du groupe ayant reçu la stimulation à basse fréquence (groupe SBF). Au contraire, ces animaux présentent une diminution massive de l'amplitude de la composante N1-P2 en comparaison aux animaux NSBF ($F_{2,10} = 10,78$, $p < 0,01$, J10 et J11). Le jour suivant (**Figure V-3B**, J12), l'amplitude de la composante N1-P2 demeure à son niveau basal pour le groupe NSBF tandis qu'un maintien de la dépression est observé chez les animaux du groupe SBF. De plus, cette dépression de l'amplitude de la composante N1-P2 reste significative en comparaison aux deux autres groupes (NSBF : $F_{1,11} = 10,73$, $p < 0,01$; groupe contrôle : $F_{1,9} = 43,44$, $p < 0,001$). L'analyse statistique réalisée sur les données des animaux des groupes NSBF et contrôle ne révèle aucune différence inter-groupe ($F < 1$).

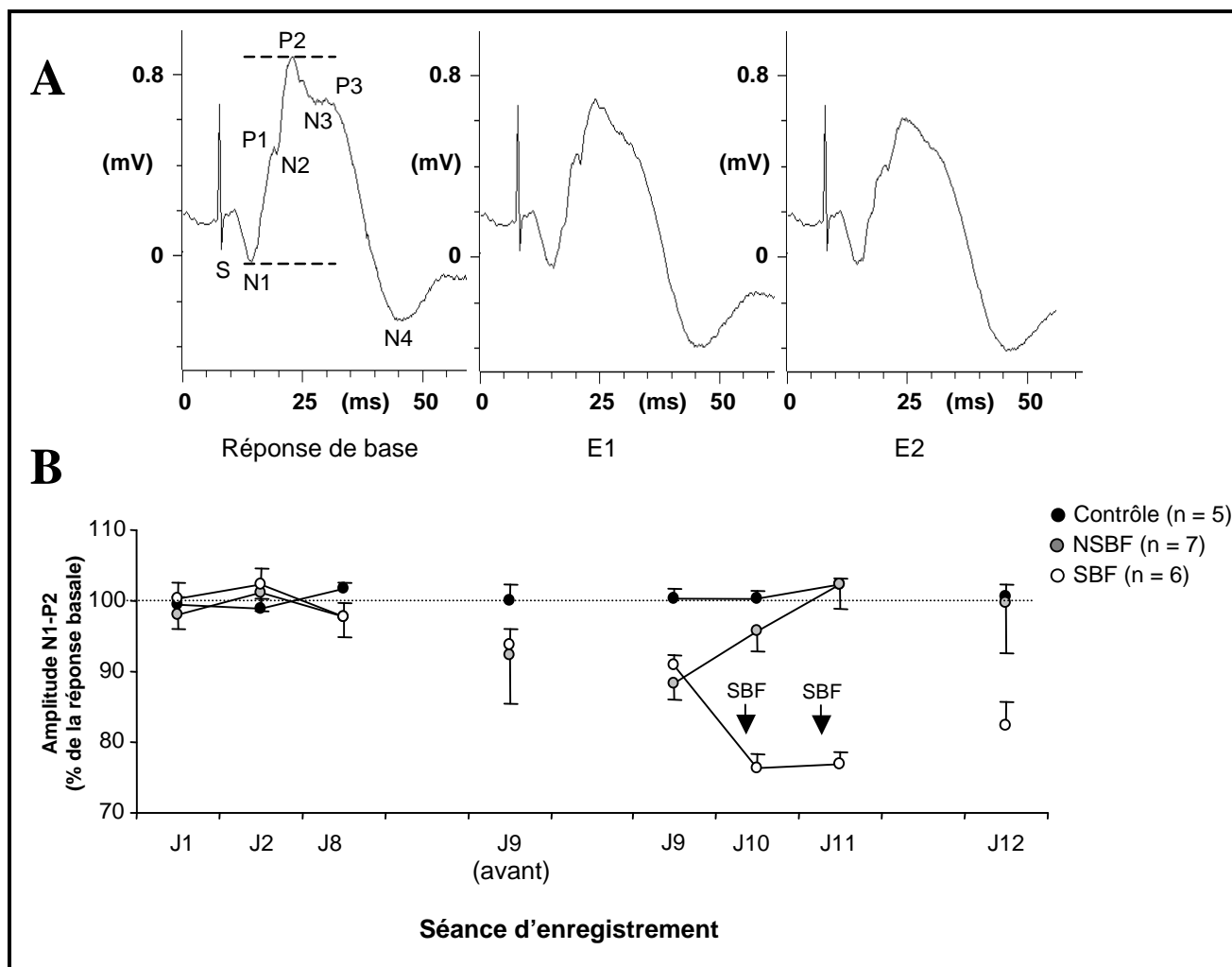


Figure V-3 : Effets de la stimulation thalamique à basse fréquence au cours de l'extinction de la peur apprise. **A** : Exemples de changements de l'amplitude du potentiel de champ préfrontal chez une souris du groupe SBF. Ces réponses représentatives ont été enregistrées au cours de l'établissement de la réponse de base (gauche), de la première (milieu) et de la deuxième (droite) séance d'extinction (respectivement E1 et E2). Les changements de l'excitabilité préfrontale correspondent aux changements de l'amplitude de la composante N1-P2. **B** : Changements moyens de l'amplitude de la composante N1-P2 au cours des 3 jours d'enregistrement de la réponse basale (J1, J2, et J8), avant la première séance d'extinction (J9), au cours des différentes séances d'extinction (J9-11) et 24 heures après la dernière séance d'extinction (J12) pour les 3 groupes de souris (groupes SBF et NSBF et groupe contrôle).

- Comportement

La réponse émotionnelle conditionnée d'immobilisation (RECI) a été mesurée au cours des 20 secondes correspondant à chaque émission du stimulus sonore seul. Cette réponse n'a pas été observée chez les souris non conditionnées qui ont présenté un niveau d'immobilité faible et stable tout au long des 3 séances d'extinction ($F < 1$). Par contre, nous notons, au cours des deux premières

séances d'extinction (J9 et J10 ; **Figure V-4**), un fort pourcentage de RECI chez les souris conditionnées à exprimer ce comportement en réponse au SC sonore (groupes SBF et NSBF). Le jour suivant (J11), les souris du groupe NSBF présentent un taux de RECI plus faible que celui des jours précédents, alors que les animaux du groupe SBF continuent à exprimer un haut niveau de RECI. Une ANOVA à deux facteurs avec mesures répétées réalisée sur ces valeurs montre un effet significatif des conditions expérimentales ($F_{2,15} = 40,01$, $p < 0,001$) ainsi qu'un effet des séances ($F_{2,30} = 16,95$, $p < 0,001$). Cette analyse révèle aussi que l'interaction *Conditions x Séances* est également significative ($F_{4,30} = 9,92$, $p < 0,001$). Une comparaison directe entre les trois groupes indique que les deux groupes conditionnés (SBF et NSBF) présentent un taux de RECI significativement plus élevé au cours de chaque séance d'extinction en comparaison au groupe témoin (toutes les valeurs de $p < 0,001$). Les deux groupes conditionnés diffèrent l'un de l'autre uniquement lors de la dernière séance d'extinction ($F_{1,11} = 15,48$, $p < 0,001$). Une ANOVA à un facteur avec mesures répétées réalisée sur les valeurs du groupe NSBF indique une réduction significative de la RECI tout au long des 3 séances d'extinction ($F_{2,12} = 39,75$, $p < 0,001$) tandis que les souris du groupe SBF présentent une forte résistance à l'extinction de la peur apprise, caractérisée par un retour (lors de la troisième séance) de la RECI à des valeurs optimales.

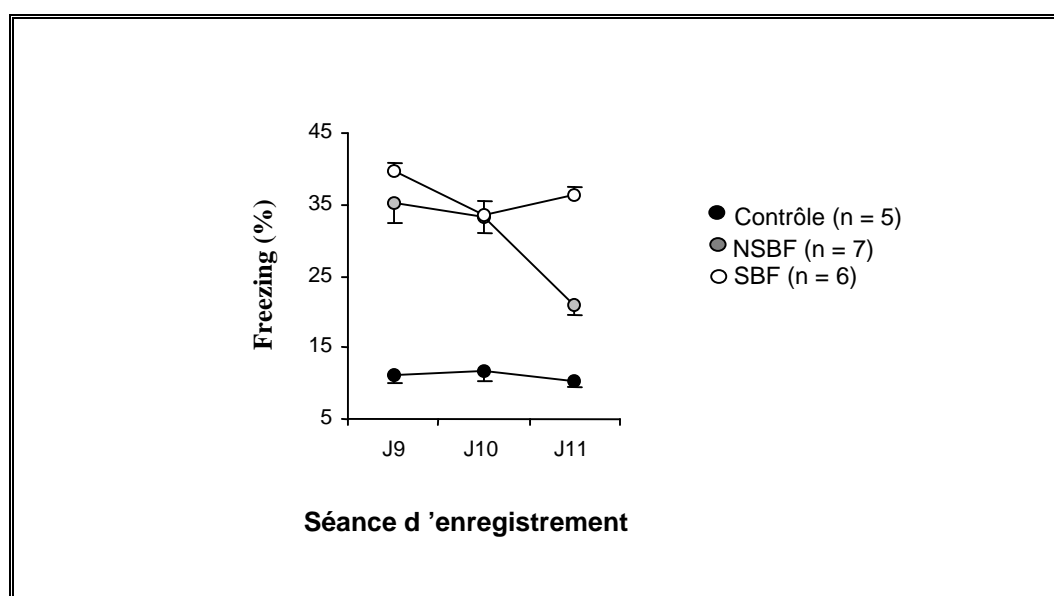


Figure V-4 : Pourcentages moyens de RECI (freezing) au SC sonore au cours des séances d'extinction (J9-J11) pour les trois groupes d'animaux.

En résumé, les données de cette expérience mettent en évidence : que (1) la SBF du MD, chez des animaux soumis au protocole d'extinction de la peur apprise induit, contrairement à nos

données précédentes (voir chapitre III ; et aussi Herry et coll., 1999), uniquement une DLT de l'efficacité synaptique préfrontale (en effet, aucun animal n'a présenté des changements de type potentialisation après SBF) et (2) la DLT préfrontale s'associe à un retour de la RECI à des valeurs optimales.

B/ Expérience II : effets d'un protocole induisant une résistance à l'extinction de la peur apprise sur la plasticité synaptique préfrontale.

Nous venons de montrer que la SBF du MD, induisant une DLT préfrontale, au cours de l'extinction de la peur apprise provoque une réactivation de la RECI à des valeurs optimales. Toutefois, ce résultat ne permet pas d'établir une relation étroite entre la DLT observée dans le CPFm et le retour de la RECI. En effet, on peut supposer que la SBF du MD peut induire des changements d'efficacité synaptique dans d'autres structures cérébrales, en plus du CPFm. Ces changements peuvent être directement responsables de l'effet comportemental observé dans l'étude précédente. Afin d'associer la dépression de l'excitabilité préfrontale au phénomène de retour de la RECI aux valeurs optimales, nous avons examiné si le blocage (ou le ralentissement) de l'extinction de la peur apprise par un biais comportemental s'accompagne également d'une dépression de l'efficacité synaptique de type DLT dans le CPFm. Pour cela nous avons étudié les effets d'un protocole induisant une résistance d'extinction, caractérisée par un retour des RC d'une séance à l'autre, sur l'efficacité synaptique préfrontale. Le protocole choisi est un renforcement partiel du SC connu pour produire une résistance d'extinction en comparaison à un renforcement continu ou systématique du SC (Humphreys, 1939 ; Sheffield, 1949 ; Coffey et coll., 1989).

1/ Matériel et méthodes

Pour cette expérience, 15 souris de la même lignée et du même âge que pour les expériences précédentes ont été utilisées. Les protocoles d'entretien des animaux et de chirurgie correspondent à ceux décrits précédemment.

A la fin de la période de récupération chirurgicale, 11 souris présentant des réponses électrophysiologiques stables ont été conservées pour la suite de l'expérimentation. Ces animaux ont ensuite été répartis aléatoirement en deux groupes : les animaux du premier groupe (n = 5) étaient destinés au protocole de conditionnement au cours duquel la présentation d'un SC sonore est

systématiquement suivie du SI (renforcement systématique), tandis que ceux du deuxième groupe (n = 6) étaient destinés au protocole de renforcement partiel.

- Protocole expérimental

L'expérience II du chapitre précédent nous indique que la dépression de l'efficacité synaptique préfrontale, lors de l'émission d'un SC sonore initialement apparié au choc électrique (SI), est dépendante du nombre d'association SC-SI. En effet, la dépression de l'efficacité synaptique préfrontale ne s'exprime pas lorsque le nombre de présentations SC-SI est inférieur à 4. Pour cette raison, nous avons choisi de conditionner les animaux du premier groupe avec deux présentations renforcées et deux présentations non renforcées du SC (groupe 2SC+/2SC-) afin d'attribuer un éventuel développement de dépression de l'efficacité synaptique préfrontale au protocole utilisé (renforcement partiel) et non uniquement à la présentation du SC, les animaux contrôles étant conditionnés avec 2 associations SC-SI (groupe 2SC+). Les quatre présentations du groupe 2SC+/2SC- sont effectuées de façon aléatoire. Pour les deux groupes, le SC correspond à un son de 2500 Hz, 80 dB, 20 s, et le SI à un choc électrique de 0.9 mA, 1 s. L'intervalle inter-présentations est compris entre 60 et 180 secondes. Sur le plan électrophysiologique, les enregistrements sont effectués avant le conditionnement (établissement des réponses de base), avant la première présentation du SC, pendant toutes les présentations du SC et vingt-quatre heures après la troisième séance d'extinction (la troisième séance étant aussi la dernière). Les paramètres d'enregistrement et d'extinction de la peur apprise sont identiques à ceux des expériences précédentes.

- Analyses des données

Toutes les analyses (histologiques, électrophysiologiques et comportementales) sont identiques à celles décrites précédemment (chapitre II).

2/ Résultats

- Histologie

Seuls les animaux présentant des sites d'implantation des électrodes similaires à ceux décrits dans l'expérience I ont été conservés pour l'ensemble des études électrophysiologiques et comportementales, soit un total de 11 animaux sur les 15 de départ.

- Electrophysiologie

Les données électrophysiologiques (**Figure V-5A**, J9) montrent que la procédure de renforcement partiel (groupe 2SC+/2SC-) n'affecte pas l'efficacité synaptique préfrontale avant et au cours de la première séance d'extinction de la peur apprise (4 présentations du son seul avec un intervalle inter-présentations allant de 60 à 180 secondes). Cependant, les animaux de ce groupe présentent une dépression de l'amplitude de la composante N1-P2 du potentiel de champ à partir du deuxième jour de la procédure d'extinction (J10-J11). Cette dépression est toujours présente 24 heures après la dernière séance d'extinction (J12). Le groupe ayant reçu un renforcement systématique (groupe 2SC+) ne présente pas de modification d'efficacité synaptique au cours de l'extinction de la peur apprise. Ces données indiquent globalement que la dépression observée avec le groupe 2SC+/2SC- est liée au protocole de renforcement partiel et non à la simple présentation ultérieure du SC. Une ANOVA à deux facteurs avec mesures répétées réalisée sur ces données ne révèle aucun effet significatif des conditions expérimentales et de la séance d'extinction ($F_{7,63} = 1,56$, $p > 0,05$). Cependant, l'interaction *Condition* x *Séance* est significative ($F_{7,63} = 5,02$, $p < 0,001$). Les analyses effectuées par un test de Scheffé post-hoc montrent que les deux groupes diffèrent l'un de l'autre à partir de la deuxième séance d'extinction (J10: $F_{1,9} = 7,29$, $p < 0,05$; J11 : $F_{1,9} = 9,59$, $p < 0,05$) et au cours de l'enregistrement effectué 24 heures après la dernière séance d'extinction (J12 : $F_{1,9} = 9,54$, $p < 0,05$).

- Comportement

Les données représentées dans la **Figure V-5B**, mettent en évidence que la procédure de renforcement partiel (groupe 2SC+/2SC-) n'affecte pas l'acquisition de la peur apprise relative au SC. En effet, au cours de la première séance d'extinction, le niveau de RECI des animaux du groupe 2SC+/2SC- est similaire à celui présenté par ceux du groupe 2SC+. Cependant, et contrairement aux animaux du groupe 2SC+ qui présente une réduction progressive de la RECI au cours des séances suivantes (J9-11), les animaux du groupes 2SC+/2SC- présentent un retour de la RECI à des valeurs optimales lors de la troisième séance d'extinction (J11). Une ANOVA effectuée sur ces

valeurs (2 facteurs en mesure répétée) révèle un effet significatif des conditions expérimentales ($F_{1,9} = 15,58$, $p < 0,01$) et des séances d'extinction ($F_{2,18} = 5,72$, $p < 0,05$). L'interaction *Conditions* x *Séances* est aussi significative ($F_{2,18} = 9,98$, $p < 0,01$). Une ANOVA à un facteur indique que les deux groupes diffèrent l'un de l'autre uniquement sur la dernière séance d'extinction de la peur apprise ($F_{1,9} = 45,33$, $p < 0,001$).

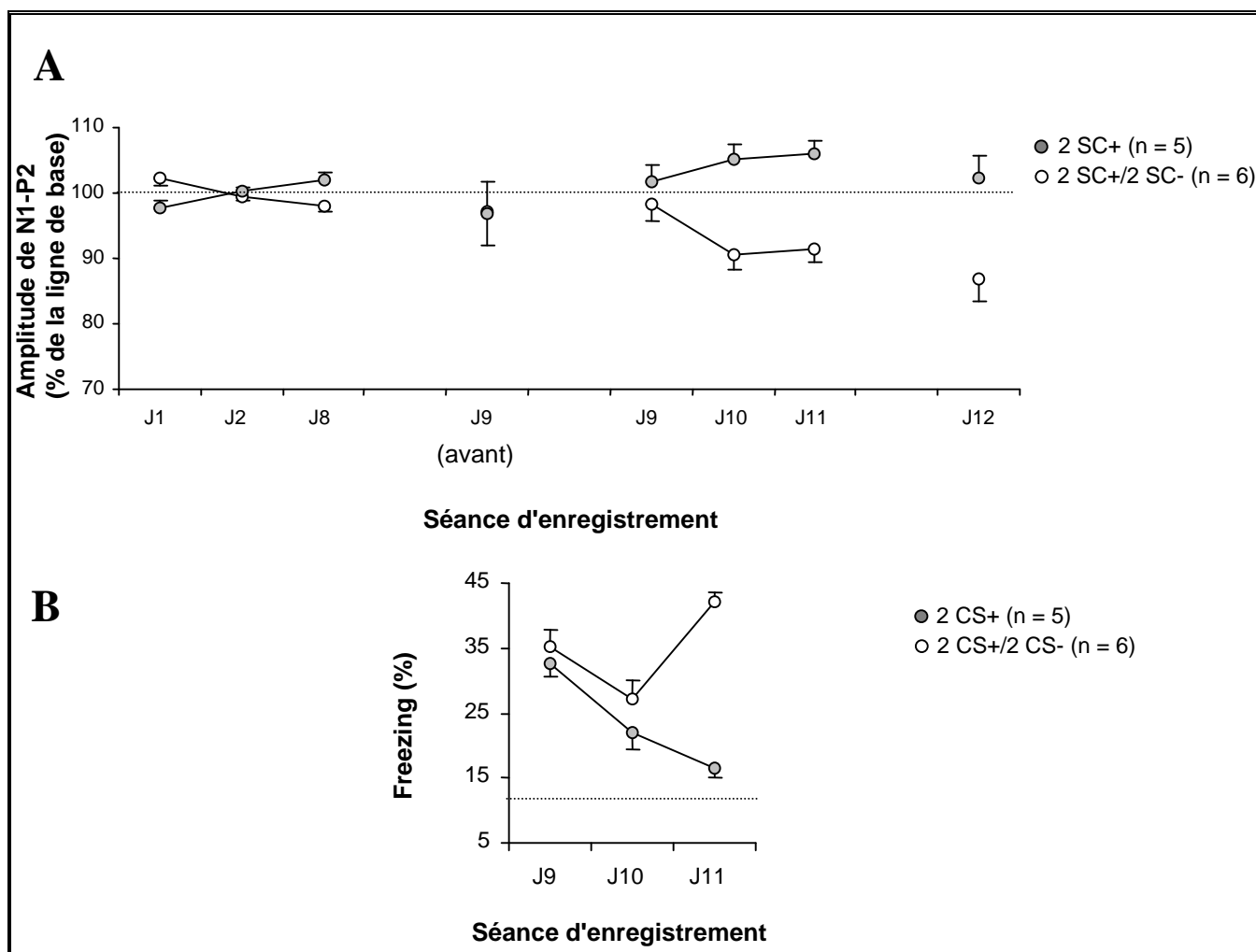


Figure V-5 : Effets du renforcement partiel du SC. **A** : Pourcentage moyen de changements de l'amplitude de la composante N1-P2 du potentiel de champ au cours des différentes séances d'enregistrement pour chaque groupe (groupe renforcement partiel : 2SC+/2SC- ; groupe contrôle : 2SC+). La présentation du SC induit chez le groupe 2SC+/2SC- une forte dépression de l'excitabilité synaptique préfrontale à partir du deuxième jour d'extinction. La dépression est toujours présente 24 heures après la dernière séance d'extinction. Les animaux du groupe contrôle ne présentent pas de telles modifications d'efficacité synaptique. **B** : Pourcentage moyen de RECI (« freezing ») pour chaque groupe au cours des séances d'extinction (J9-J11) de la peur apprise. La ligne hachurée représente le niveau moyen de freezing du groupe non conditionné (contrôle) de l'expérience I. Il est important de noter le fort retour de la peur au cours de la dernière séance d'extinction pour les souris ayant reçu un renforcement partiel.

En résumé, cette expérience montre que le protocole de renforcement partiel entraîne une forte réactivation de la RECI (persévération émotionnelle) lors de la troisième séance d'extinction, alors que, lors de la même séance, on note une baisse significative de la RECI chez les animaux du groupe témoin (2SC+). Sur le plan électrophysiologique, nous notons que le protocole de renforcement partiel produit, à partir de la deuxième séance d'extinction de la peur apprise, une dépression durable de l'excitabilité synaptique préfrontale. Cette dépression de type DLT se maintient au moins 24 heures après la troisième séance d'extinction. La persévération émotionnelle, induite naturellement (protocole de renforcement partiel) ou artificiellement (SBF du MD ; expérience précédente), est donc associée à une dépression durable de l'efficacité synaptique dans le CPFm.

C/ Expérience III : analyse du rôle de la plasticité synaptique préfrontale dans le maintien de l'extinction de la peur apprise.

Dans ses travaux publiés en 1927, Pavlov note que les réponses apprises peuvent réapparaître spontanément après un certain délai post-extinction. Des observations récentes confirment ces données en montrant particulièrement que les symptômes associés à la peur apprise peuvent également réapparaître après un certain délai post-extinction (Gewirtz et coll., 1997 ; Tarrier et coll., 1999). Ces travaux, couplés à nos données (expériences I et II de ce chapitre), indiquent que (i) l'extinction peut être labile, et (ii) cette labilité peut dépendre, du moins en partie, du maintien de la dépression de l'efficacité synaptique préfrontale. En effet, au cours des expériences précédentes, nous avons constaté que le retour de la RECI à des valeurs optimales d'une séance d'extinction à l'autre, induite soit de façon artificielle (SBF du MD) ou de façon naturelle (renforcement partiel du SC), s'associe à une dépression durable de l'efficacité synaptique préfrontale. Inversement, sachant que l'extinction peut également se stabiliser au cours du temps (Pavlov, 1927 ; Tarrier et coll., 1999), il est donc possible d'envisager que cette stabilisation nécessite également la suppression de la dépression de l'efficacité synaptique préfrontale. En d'autres termes, au cours (ou à la suite) de l'extinction de la peur apprise, le retour à la normale (ou la potentialisation durable) de l'efficacité synaptique préfrontale constituerait une condition nécessaire au maintien (ou à la consolidation) de l'extinction de la peur apprise. Cette troisième expérience explore cette hypothèse.

Sachant que (i) l'extinction de la peur apprise peut se produire soit en une séance unique, comportant un grand nombre de présentations du SC (apprentissage *massé*), soit en plusieurs

séances (apprentissage *distribué*), comportant chacune un nombre faible de présentations du SC (Rowe et Craske, 1998), et (ii) chaque protocole peut différentiellement affecter la consolidation de l'extinction (Schmidt et Bjork, 1992 ; Rowe et Craske, 1998), nous avons d'abord cherché à déterminer lequel des deux protocoles, induit *potentiellement* un maintien à long terme de l'extinction de la peur apprise. Nous avons, par la suite, évalué les conséquences d'un tel protocole sur l'évolution de la plasticité synaptique préfrontale (c'est-à-dire, savoir si le maintien de l'extinction est associé à une conversion durable de la plasticité synaptique préfrontale). Enfin, sachant que certains individus présentent une réactivation des réponses de la peur indépendamment du protocole utilisé (apprentissage *massé* ou *distribué* ; voir Lang et Craske, 2000), nous avons aussi jugé utile d'évaluer si l'induction d'une PLT préfrontale, par une application de la SHF dans le MD avant la procédure d'extinction, abolit tout retour de la RECI et donc favorise le maintien de l'extinction de la peur apprise. Tous les tests de rétention de l'extinction (tests qui permettent de mettre en évidence le degré de consolidation de l'information acquise) ont été effectués une semaine après l'extinction totale de la peur apprise.

1/ Matériel et méthodes

- Les animaux

Trente trois souris mâles de même condition que celles des expériences précédentes ont été utilisées pour cette expérience.

- Les opérations chirurgicales

Par utilisation d'avertine comme anesthésique et avec des techniques conventionnelles de chirurgie, les souris (n = 17), destinées à l'analyse électrophysiologique, ont été implantées ipsilatéralement avec des électrodes en fil de platine-iridié isolé (diamètre final : 90 μ m) excepté à leur extrémité. Les électrodes de stimulation et d'enregistrement sont respectivement positionnées dans le MD (0.8 mm postérieurement au bregma et 0.3 mm latéralement) et dans le CPFm (2.4 mm antérieurement au bregma et 0.4 mm latéralement). L'intégralité du système miniature est alors fixée avec du ciment dentaire, puis les animaux sont replacés dans l'animalerie pour une période de récupération d'au moins 5 jours.

- Protocoles expérimentaux

Analyse comportementale uniquement :

Une semaine après l'isolement, les animaux ($n = 16$) destinés uniquement à l'analyse comportementale sont manipulés et habitués pendant trois jours au contexte dit « d'extinction » qu'ils explorent librement (c'est dans ce contexte que se déroulent les séances d'extinction ; voir description dans le Chapitre II). A l'issue de cette phase d'habituation, les animaux sont placés le jour suivant dans un autre contexte (contexte de conditionnement ; voir description dans le Chapitre II) où ils reçoivent 2 minutes plus tard une série de 4 présentations couplées SC-SI (avec pour SC : un son de 2500 Hz, 80 dB, 20 secondes, et pour SI : un choc électrique de 0.9 mA, 1 s). L'intervalle séparant les présentations varie de 60-180 secondes. A l'issue du conditionnement, les animaux sont aléatoirement séparés en deux groupes : les animaux du premier groupe (groupe *massé* $n = 8$) sont soumis à une séance unique d'extinction comprenant 16 présentations du SC seul dans le contexte d'extinction, ceux du deuxième groupe (groupe *distribué*, $n = 8$) sont exposés à quatre séances d'extinction comprenant chacune 4 présentations du SC seul dans le contexte d'extinction. 7 jours après la fin de cette procédure, tous les animaux des groupes *massé* et *distribué* sont réexposés au SC (4 présentations) dans le contexte d'extinction (test du retour de la peur : TRP). L'intervalle séparant les présentations du SC au cours de l'extinction et du TRP varie entre 60 et 180 secondes. Un schéma du protocole expérimental d'extinction est présenté dans la **Figure V-6**.

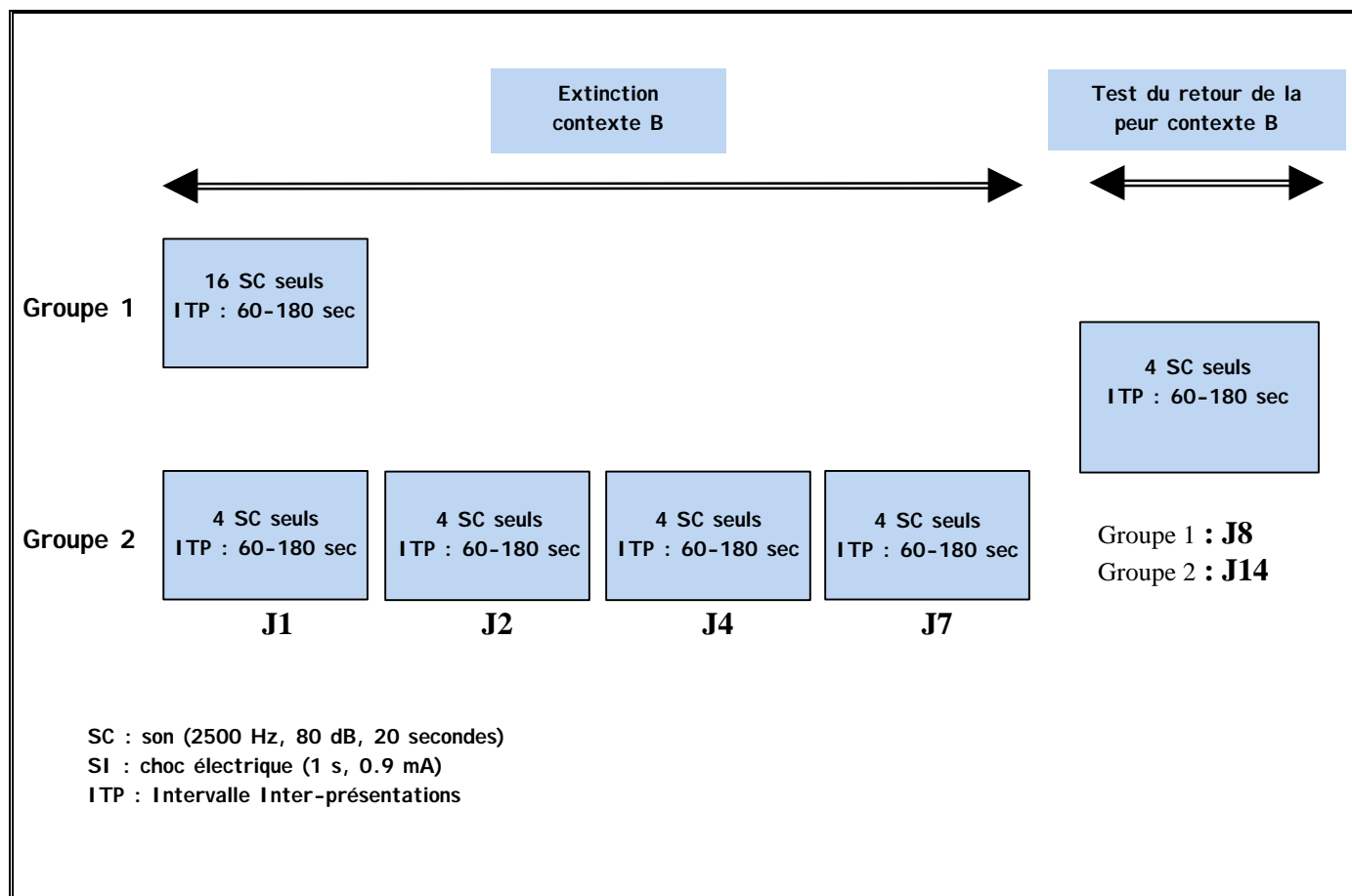


Figure V-6 : Protocole expérimental concernant la troisième expérience.

Analyse électrophysiologique couplée au comportement :

A la suite de la période de récupération, les animaux destinés à l'analyse électrophysiologique, sont habitués au transport de l'animalerie à la pièce expérimentale et aux connexions et déconnexions de leur têtère au dispositif de stimulation et d'enregistrement électrophysiologique pendant une période 4 jours. Après cette phase d'habituation, les réponses de base sont établies sur une période de 2 jours (1 séance d'enregistrement par jour : J1 et J2), chaque enregistrement correspondant à la moyenne de 7 potentiels de champ enregistrés à 0.2 Hz. Cinq jours plus tard (J8), une troisième séance d'enregistrement est effectuée afin de vérifier la stabilité des réponses avant la procédure de conditionnement. Les souris sont alors conditionnées par présentation successive de 4 associations SC-SI (le SC est un son de 2500 Hz, 80 dB, 20 secondes, et le SI est un choc électrique de 1 s, 0.9 mA). L'intervalle séparant les présentations est compris entre 60 et 180 secondes. Le lendemain (J9), les animaux sont divisés en deux groupes, le premier (groupe SHF, n=8) reçoit une stimulation à haute fréquence (10 trains de 50 pulses à 250 Hz

séparés de 10 secondes) 32 minutes avant la procédure d'extinction, le deuxième groupe sert de groupe contrôle (groupe NSHF, n=9). La procédure d'extinction est constituée d'une séance unique comprenant 16 présentations (séparées par un intervalle de 60-180 secondes) du son seul. Le maintien à long terme de l'extinction de la peur apprise est testé une semaine plus tard par l'utilisation d'une séance unique de 4 présentations (séparées par un intervalle de 60-180 secondes) du son seul. Les potentiels de champ préfrontaux obtenus par stimulation du MD sont enregistrés (7 réponses enregistrées à 0.2 Hz) avant la première séance d'extinction et au cours de chaque présentation du son seul. Un schéma du protocole expérimental est reproduit ci-dessous (**Figure V-7**).

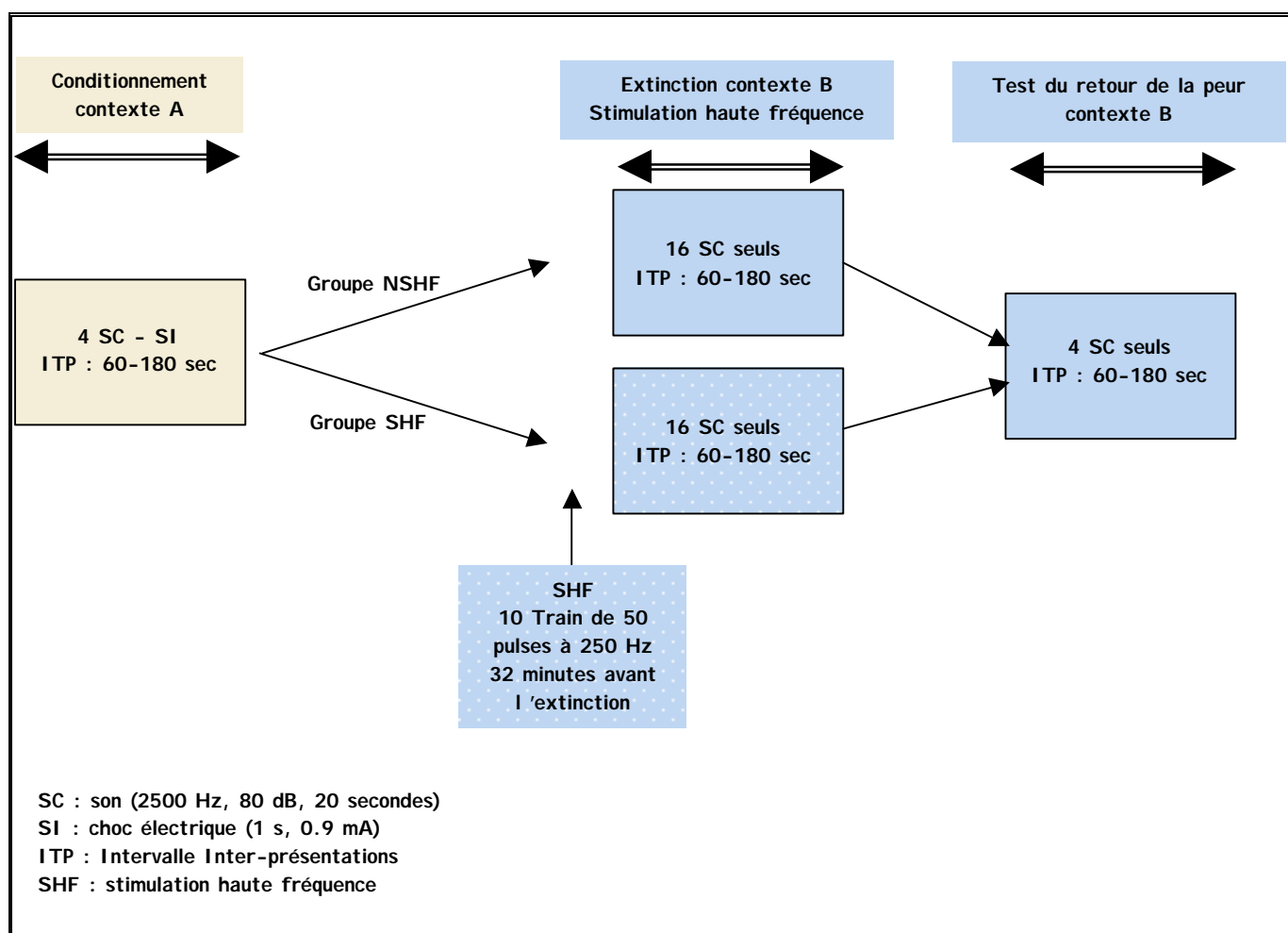


Figure V-7 : Protocole expérimental concernant la dernière expérience.

2/ Résultats

Analyse comportementale uniquement :

Les résultats de cette expérience sont reproduits dans la **Figure V-8**. Avant le conditionnement, tous les animaux présentent un niveau basal d'immobilisation (« freezing ») inférieur à 10 %. Au cours de l'acquisition du conditionnement (**Figure V-8A** : A1-A4), l'ensemble des animaux présente rapidement un niveau élevé de RC (RECI) qui atteint des valeurs significatives à partir de la dernière présentation couplée SC-SI (groupe *massé* : $F_{1,8} = 47,571$, $p = 0,0001$; groupe *distribué* : $F_{1,8} = 30,972$, $p < 0,005$). Au cours des procédures d'extinction (**Figure V-8A**, E1-E4), le niveau de la RECI diminue progressivement pour chacun des deux groupes ; les niveaux de RECI observés en E1 (1^{er} bloc d'extinction) sont identiques à ceux enregistrés en A4 (dernier bloc d'acquisition). L'analyse statistique indique que, pour chacun des deux groupes, la baisse de la RECI devient significative par rapport aux niveaux observés en A4 à partir du bloc E3 d'extinction (A4 x E3, groupe *massé* : $F_{1,8} = 8,30$, $p = 0,0203$; groupe *distribué* : $F_{1,8} = 11,778$, $p = 0,0089$). L'analyse statistique révèle aussi que l'extinction est similaire dans les deux groupes d'animaux ($p > 0,05$). Cependant, une différence significative est notée entre les deux groupes ($F_{1,16} = 9,215$, $p = 0,0079$) lors du test de rétentioin de l'extinction (TRE) effectué une semaine après l'épreuve d'extinction. L'analyse détaillée montre que les animaux du groupe *distribué* expriment une réactivation significative de la RECI (E4 x TRE : $F_{1,8} = 20,420$, $p = 0,0020$), alors que ceux du groupe *massé* ne présentent aucun changement comportemental significatif entre E4 et TRE.

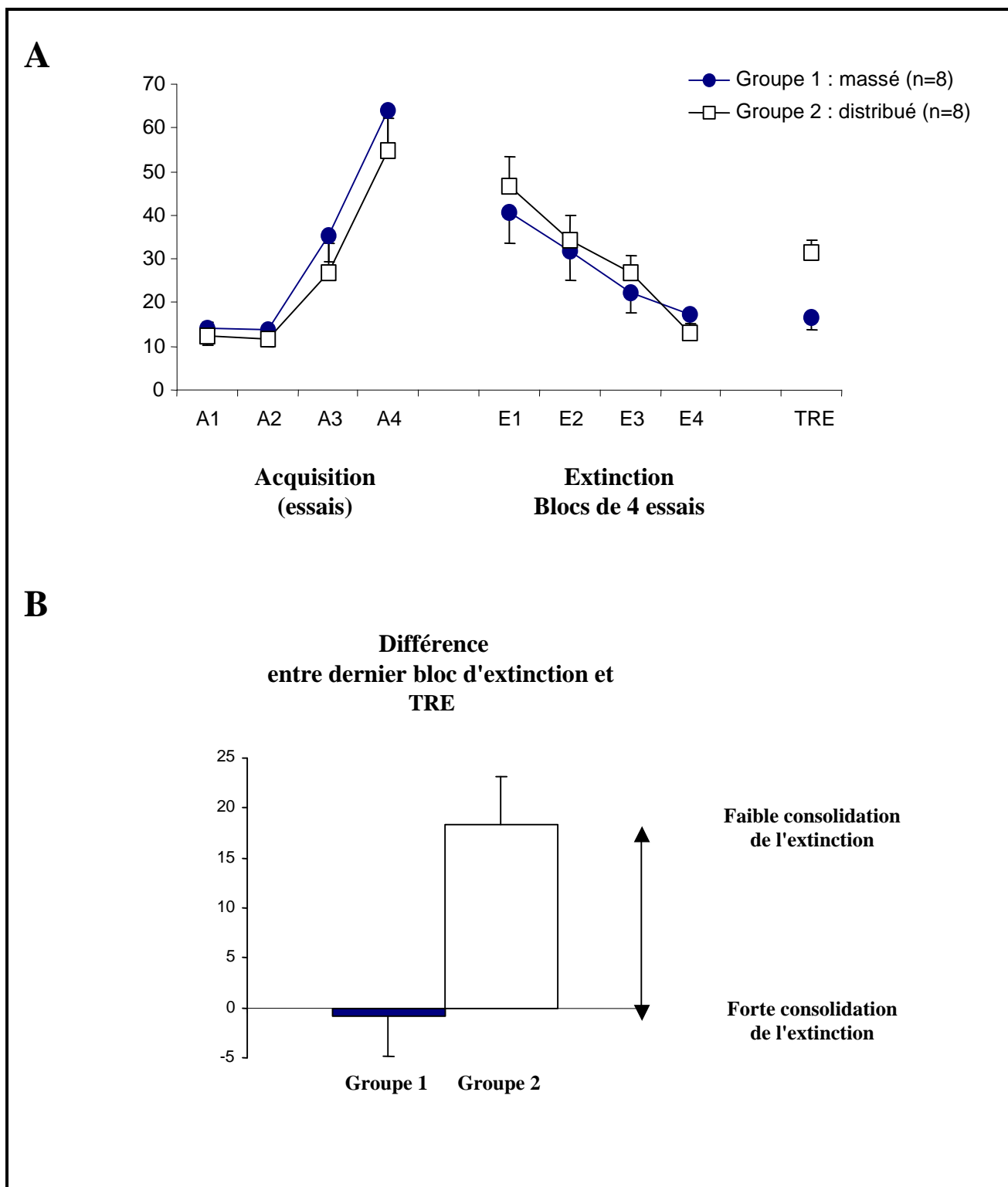


Figure V-8 : Effet d'un protocole massé versus espacé sur l'extinction de la peur apprise. **A** : Pourcentage moyen de RECI (Freezing) au son pendant le conditionnement (A1-A4), l'extinction (E1-E4) et au cours du test de rétention de l'extinction (TRE). **B** : Tendance à un retour de la peur chez les animaux du groupe « distribué » et absence totale de retour de la peur chez les animaux du groupe « massé ».

Analyse électrophysiologique couplée au comportement :

L'analyse comportementale (étude précédente) indique que dans nos conditions expérimentales, le maintien de l'extinction se développe plus facilement dans le cas d'un apprentissage *massé* que dans celui d'un apprentissage *distribué*. Par conséquent nous avons choisi le premier type d'apprentissage (*massé*) pour évaluer si le maintien de l'extinction s'associe à une conversion de la plasticité synaptique préfrontale, de la dépression au rétablissement du niveau basal (ou de la dépression à la potentialisation), pendant ou après l'acquisition de l'extinction.

- Electrophysiologie

Tous les animaux soumis à l'analyse électrophysiologique ont présenté des réponses électrophysiologiques stables au cours de l'établissement des niveaux référentiels d'efficacité synaptique. L'analyse histologique a confirmé le bon emplacement des électrodes dans le MD et le CPFm. Les animaux exposés au même protocole comportemental ont été séparés en deux groupes : le premier groupe (groupe *NSHF*) nous a permis d'évaluer l'effet potentiel de l'apprentissage *massé* (c'est-à-dire le maintien de l'extinction) sur l'évolution de la plasticité synaptique préfrontale, tandis que le second groupe (groupe *SHF*) a permis d'analyser les effets comportementaux de la SHF du MD (induisant une PLT préfrontale ; voir Chapitre III) sur l'apprentissage et le maintien de l'extinction. La **Figure V-9A** illustre des exemples de changements d'amplitude du complexe N1-P2 au cours de l'extinction de la peur apprise dans chacun des deux cas (groupes *NSHF* et *SHF*).

Pour les animaux du premier groupe (*NSHF*), Nous notons une faible diminution non significative de l'amplitude du complexe N1-P2 avant la séance d'extinction. Au cours des 4 premières présentations du SC (premier bloc, **Fig V-9A**, J9b), tous les animaux de ce groupe présentent une diminution plus importante et significative de l'amplitude du complexe N1-P2 ($F_{3,24} = 5,78$, $p < 0,01$). Cependant, l'examen des changements individuels de l'amplitude du complexe N1-P2 au cours des blocs suivants (3 blocs : blocs J9c-D9e de la **Fig V-9A**) révèle l'existence de deux sous-groupes. D'une part, des souris présentent un retour progressif de l'amplitude du complexe N1-P2 vers les valeurs de base (sous-groupe *NSHF1* ; $n = 4$; **Fig V-9A**), et d'autre part, des souris présentent une dépression persistante de l'amplitude du complexe N1-P2 (sous-groupe *NSHF2* ; $n = 5$; **Fig V-9A**). L'analyse statistique sur les données du sous-groupe *NSHF2* montre que la dépression est significative pour chacun des 3 blocs (toutes les valeurs de $p < 0,01$). Les enregistrements effectués une semaine plus tard permettent aussi de différencier les deux sous-

groupes. Avant la réexposition au SC (J16a), les animaux *NSHF1* présentent une potentialisation non significative de l'amplitude du complexe N1-P2, alors que ceux du groupe *NSHF2* présentent des valeurs de l'amplitude de N1-P2 similaires à celles du niveau basal. Pendant la réexposition sonore (J16b), le groupe *NSHF1* exprime un maintien de la potentialisation de l'amplitude du complexe N1-P2, qui devient significative (J16b : $F_{3,9} = 5,11$, $p < 0,03$) alors que les animaux du groupe *NSHF2* expriment une dépression significative (J16b : $F_{3,12} = 5,18$, $p < 0,05$) de l'amplitude de N1-P2. La comparaison statistique des deux groupes révèle une différence significative sur les deux dernières séances d'extinction (J9d et J9e) et au cours du TRE (J16b) (toutes les valeurs de $p < 0,03$).

Pour les animaux du second groupe (*SHF*), nous notons que la SHF thalamique, appliquée avant la séance d'extinction, induit une augmentation non significative de l'amplitude du complexe N1-P2 du potentiel de champ au regard des valeurs basales et des valeurs observées chez les souris du groupe *NSHF* (**Fig V-9A** : J9a). Toutefois, lors des présentations sonores, nous observons une absence de dépression (en dessous du niveau basal) de l'amplitude de N1-P2. Au contraire, nous notons une potentialisation significative de cette amplitude au cours des deux derniers blocs d'extinction (J9d : $F_{3,21} = 20,46$, $p = 0,0001$; J9e : $F_{3,21} = 7,75$, $p = 0,001$). Nous notons également le maintien de cette potentialisation une semaine plus tard, mais elle est toutefois plus significative, que lors des présentations sonores (J16b : $F_{3,21} = 11,99$, $p = 0,0001$) en comparaison au niveau basal. En comparant ces données (groupe *SHF*) à celles issues des sous-groupes *NSHF1* et *NSHF2*, il apparaît que les animaux *SHF* diffèrent des animaux *NSHF2* sur les deux derniers blocs d'extinction (J9d et J9e) et lors du TRE (J16b), (toutes les valeurs de $p < 0,02$). Les souris *SHF* et *NSHF1* ne diffèrent que sur la séance J9d de l'extinction ($p < 0,01$).

- Comportement

Sur le plan comportemental, tous les animaux (*SHF*, *NSHF1* et *NSHF2*) présentent une baisse similaire de la RECI au cours des 16 présentations non renforcées du SC (**Figure V-9B** : J9b à J9e). Au cours des 4 dernières présentations du SC (**Figure V-9B** : J9e), tous les animaux présentent des pourcentages d'immobilité équivalents aux valeurs obtenues pour les souris non conditionnées de l'expérience I. Cette donnée indique que notre procédure d'extinction induit une extinction complète de la RECI. Cependant, lors du TRE (J16b) qui a lieu une semaine plus tard, les présentations du SC seul réactivent la RECI chez les souris *NSHF2*, tandis que les pourcentages d'immobilité restent au niveau basal (absence de RECI) pour les souris *NSHF1* et *SHF* (**Figure V-**

9A). Une ANOVA à deux facteurs avec mesures répétées (3 groupes X 4 séances : J9b-J9e) révèle un effet très significatif de la procédure d'extinction ($F_{3,42} = 37,04$, $p = 0,0001$), mais nous n'avons pas observé d'effet significatif relatif aux groupes ni en ce qui concerne l'interaction *Groupe x Extinction*. Cependant, un effet des groupes est observé sur les données du TRP (J16b : $F_{2,14} = 35,42$, $p = 0,0001$). L'analyse détaillée montre que les souris *NSHF2* diffèrent des souris *NSHF1* ($F_{1,7} = 24,78$, $p = 0,001$) et *SHF* ($F_{1,11} = 66,57$, $p = 0,0001$). Pour les souris *NSHF2*, la comparaison des valeurs obtenues lors du TRE (J16b) et lors du dernier bloc d'extinction (J9e), indique aussi une différence significative ($F_{1,4} = 26,96$, $p < 0,01$). Par contre, l'analyse statistique ne révèle aucune différence entre les souris *SHF* et *NSHF1* et les valeurs obtenues pour ces deux groupes lors du TRE (J16b) et lors du dernier bloc d'extinction (J9e) ne sont pas significativement différentes.

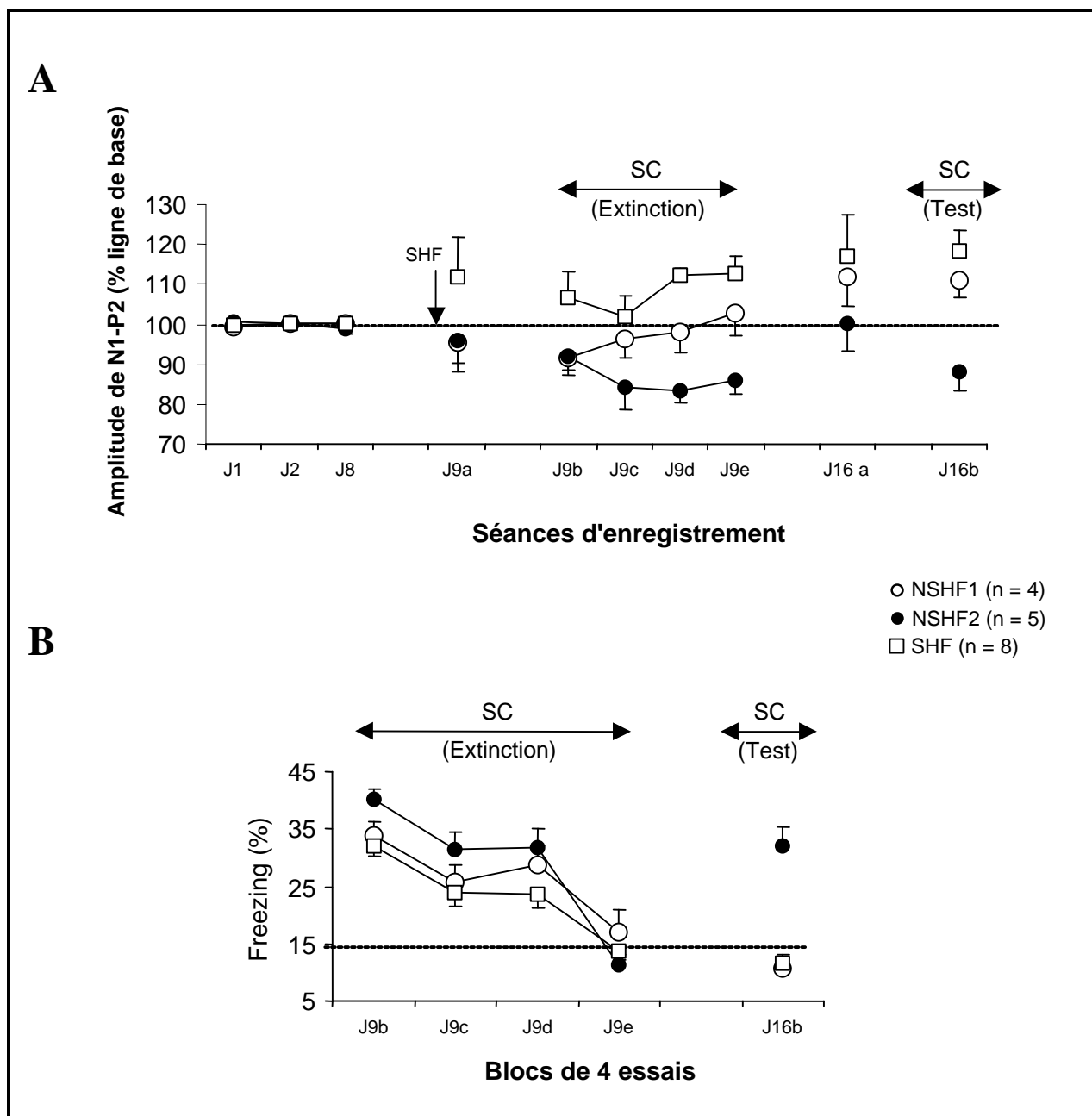


Figure V-9 : Extinction de la peur apprise et test de retour de la peur (TRP). **(A)** Pourcentage moyen de changements de l'amplitude du complexe N1-P2 au cours de l'établissement des réponses de base (Jours 1, 2 et 8), avant le premier bloc d'extinction (J9a), au cours des séances d'extinction (J9b-J9e), avant (J16a) et après (J16b) le TRP pour les souris conditionnées ayant reçu une SHF avant l'extinction (groupe SHF) et pour leurs contrôles n'ayant pas reçu de SHF (groupes NSHF1 et NSHF2). **(B)** Pourcentage moyen de RECI (« freezing ») pour les trois groupes au cours de l'extinction de la peur apprise (J9b-J9e) et au cours du TRE (J16b). La ligne en pointillé représente le niveau moyen d'immobilité des souris non conditionnées de l'expérience I.

En résumé, les études électrophysiologiques couplées aux études comportementales mettent en évidence qu'un maintien expérimental de la dépression de l'efficacité synaptique préfrontale (induit soit par la SBF du MD ou par une procédure de renforcement partiel) est associé à la persévération émotionnelle (réactivation totale de la RECI entre deux séances d'extinction de la peur apprise : dans notre cas, les séances 2 et 3). Au contraire, la potentialisation naturelle (induite par la tâche d'extinction elle-même) ou artificielle (induite par la SHF du MD) est associée à un maintien à long terme de l'extinction de la peur apprise. Finalement, bien que le protocole *massé* (une seule séance d'extinction) entraîne une meilleure rétention, une semaine plus tard, de l'extinction de la peur apprise que le protocole *distribué* (4 séances d'extinction espacées dans le temps), nous notons que l'absence d'un retour au niveau basal de l'efficacité synaptique préfrontale au cours d'un protocole *massé* s'accompagne également d'une réactivation totale de la RECI.

D/ Discussion

Nos données mettent en évidence : que (i) au cours de l'extinction, la persistance d'une dépression tonique (présente même en absence du SC ; voir expériences I et II) ou phasique (n'apparaissant qu'en présence du SC ; voir expérience III) de l'efficacité synaptique préfrontale favorise la récupération de la peur apprise (persévération émotionnelle) ; (ii) une semaine plus tard, l'utilisation d'un protocole d'extinction *distribué* se caractérise par une réactivation de la peur apprise, alors que l'utilisation d'un protocole d'extinction *massé* peut prévenir cette récupération dans 50 à 100 % des cas (expérience III) ; et (iii) le développement au cours de l'extinction, d'une potentialisation naturelle phasique (en présence du SC) ou tonique (PLT) au sein du CPFm s'oppose au retour de la peur apprise (expérience III). Dans leur globalité, ces résultats suggèrent que les synapses excitatrices du CPFm encodent le maintien à long terme (consolidation) de l'extinction de la peur apprise en augmentant durablement leur efficacité.

1/ Implication du cortex préfrontal médian dans le contrôle du phénomène de persévération émotionnelle.

Le phénomène de persévération émotionnelle peut se définir comme étant le maintien à long terme de réponses émotionnelles physiologiques et comportementales inadaptées aux situations en cours (Morgan et coll, 1993). L'absence de réversibilité de ce phénomène aboutit, par conséquent, à la persistance de manifestations anxieuses généralisées. Les neurones du CPFm ont été impliqués

dans l'inhibition des comportements inadaptés (Fuster, 1989 ; Hauser, 1999). Cependant, leur implication dans l'inhibition de la persévération émotionnelle, telle que l'inhibition de la RECI au cours d'une procédure d'extinction de la peur apprise, demeure encore controversée (Vouimba et coll., 2000). En effet, bien que des dysfonctionnements du CPFm peuvent aboutir à une résistance à l'extinction de la peur apprise (Morgan et coll., 1993 ; Morgan et LeDoux, 1995), des données lésionnelles plus récentes ne fournissent pas d'évidences directes en faveur de cette hypothèse (Gewirtz et coll., 1997 ; Vouimba et coll., 2000).

L'analyse des données neurophysiologiques nous permet de reconsidérer l'hypothèse sur l'implication des neurones du CPFm dans l'inhibition de la persévération émotionnelle. Premièrement, de nombreuses études (Bremner et coll., 1999a,b ; Garcia et coll., 1999 ; Fernandez et coll., 2001), y compris les nôtres (Herry et coll., 1999 ; Herry et Garcia, 2002), montrent que l'excitabilité des neurones préfrontaux baisse en présence d'un SC aversif. Deuxièmement, nos études (expérience I de ce chapitre) indiquent que l'efficacité synaptique préfrontale (la probabilité de décharge des neurones préfrontaux) retourne, au cours des présentations successives du SC seul, à des niveaux proches du niveau de base, ce qui indique que l'extinction est associée à la suppression de la baisse d'excitabilité des neurones préfrontaux. Troisièmement, l'administration d'une SBF thalamique, avant la deuxième et la troisième séance d'extinction, maintient la baisse de l'excitabilité préfrontale, et induit un retour complet de la peur apprise au cours de la troisième séance d'extinction. L'effet de la SBF thalamique semble être spécifique à la réactivation de la peur (persévération émotionnelle) et non à une potentialisation de l'immobilité, prenant place indépendamment de l'historique comportemental des animaux. En effet, si la SBF thalamique avait entraîné une potentialisation non spécifique de l'immobilité, cet effet aurait été observé immédiatement après la première SBF (deuxième séance d'extinction). Au cours de la deuxième séance d'extinction, le niveau de la RECI des animaux du groupe ayant reçu la SBF étant similaire à celui des animaux du groupe témoin, il semble donc plus probable que la SBF thalamique favorise une réactivation de la peur apprise et non une potentialisation non spécifique de l'immobilité des animaux. Toutefois, l'implication directe de la DLT préfrontale, induite par la SBF du MD, demeure difficile à établir à partir de cette seule expérience, étant donné que la SBF thalamique a probablement provoqué des modifications d'efficacité synaptique dans des aires extérieures au CPFm. L'effet de la SBF peut être ainsi attribué soit à ces modifications extérieures au CPFm, soit aux modifications affectant le CPFm ou encore à une combinaison des modifications extra- et intra-préfrontales. Les données issues des expériences II et III nous permettent de privilégier l'implication préfrontale. En effet, au cours de l'expérience II, l'utilisation d'un protocole induisant

une résistance à l'extinction de la peur apprise déclenche à la fois (i) une DLT-like (DLT comportementale) dans le CPFm, et (ii) une réactivation complète de la RECI. Dans l'expérience III, nous notons que les animaux qui présentent un maintien naturel de la dépression de la transmission synaptique préfrontale au cours l'extinction de la RECI, présentent également un retour de la peur apprise une semaine plus tard.

Partant de l'ensemble de cette analyse neurophysiologique, nous suggérons que la persistance de la baisse de l'excitabilité des neurones préfrontaux induit une résistance à l'extinction (persévération émotionnelle).

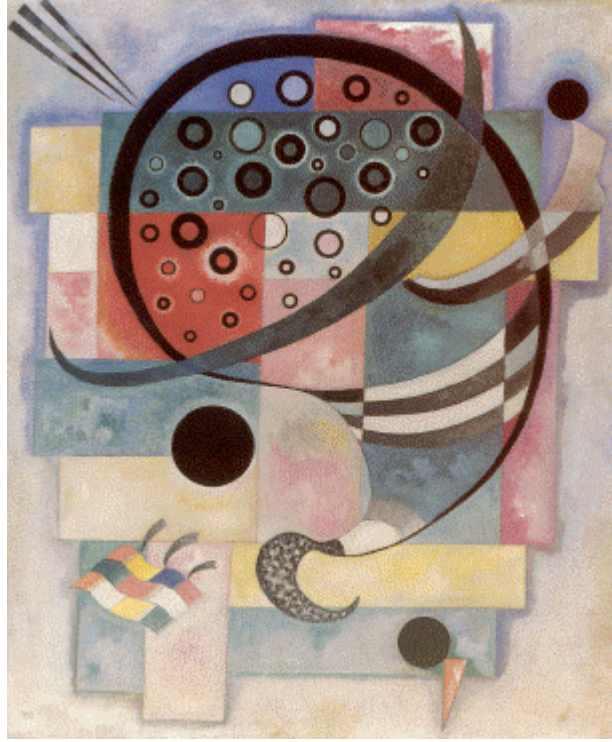
En outre, nos données indiquent que la dépression de l'excitabilité synaptique préfrontale n'interfère pas avec la procédure d'extinction au cours de la même séance mais plutôt d'un jour à l'autre. Ces données sont consistantes avec une récente étude montrant que des lésions préfrontales ne bloquent pas l'extinction de la peur apprise au cours de la même séance mais induisent un retour de la peur le jour suivant (Quirk et coll., 2000).

2/ Implication du cortex préfrontal médian dans le maintien à long terme du phénomène d'extinction de la peur apprise.

Le phénomène d'extinction de la peur apprise peut être considéré comme étant un nouvel apprentissage résultant de la présentation successive d'un SC sans le SI (Rescorla, 1979 ; Falls et coll., 1992). L'information acquise au cours de l'extinction (l'absence de renforcement) est d'abord stockée dans des registres de la mémoire à court terme (voir discussion de Quirk et coll., 2000) puis, dans certains cas, cette information peut être consolidée en mémoire à long terme (voir discussion de Falls et coll., 1992). Il y a donc ainsi une dissociation entre les processus de la mémoire à court terme et ceux de la mémoire à long terme de l'extinction de la peur apprise. Cette idée, sur l'existence d'une dissociation entre les mémoires à court terme et à long terme de l'extinction, est également illustrée par nos travaux. Nous notons, par exemple, que l'exposition des animaux à une tâche d'extinction *distribuée* semble s'accompagner d'une mémoire à court terme puisque tous les animaux présentent d'un jour à l'autre un niveau de RECI plus bas que le jour précédent, ce qui suppose un stockage des acquis de la veille. Cependant, les tests réalisés une semaine après l'extinction complète de la RECI révèle une défaillance dans la restitution complète de l'extinction (défaillance dans la formation de la mémoire à long terme). Au contraire, les animaux soumis à une tâche d'extinction *massée* présentent un maintien des informations acquises jusqu'à un délai post-apprentissage d'une semaine. L'approche lésionnelle, faisant appel à chacun de ces protocoles

d'extinction : extinction *massée* (Quirk et coll., 2000) et extinction *distribuée* (Vouimba et coll., 2000), suggère que le CPFm ne participe pas aux mécanismes de formation de la mémoire à court terme de l'extinction de la peur apprise. Cependant, l'intégrité de cette structure est requise pour la formation de la mémoire à long terme de l'extinction de la peur apprise (Quirk et coll., 2000).

A partir de ces observations, nous suggérons que la séquence dépression-potentialisation de l'efficacité synaptique préfrontale, qui se développe au cours de l'extinction de la peur apprise (voir aussi Herry et coll., 1999), peut refléter les mécanismes préfrontaux associés au maintien à long terme de l'extinction de la peur apprise, et non à l'apprentissage ou à la formation de la mémoire à court terme de l'extinction. En effet, nous notons, au cours de l'expérience III, que tous les animaux ont présenté une extinction complète (*apprentissage massé*) de la RECI et ceci, indépendamment de l'évolution de la plasticité synaptique préfrontale (maintien de la dépression, normalisation ou bien potentialisation). Cependant, seuls les animaux présentant une suppression de la dépression de l'efficacité synaptique préfrontale (retour au niveau basal au cours de l'extinction) ont manifesté un maintien à long terme (au moins une semaine) de l'extinction de la peur apprise. Notons également que le maintien de l'extinction se caractérise au niveau préfrontal par une potentialisation phasique (c'est-à-dire qui n'apparaît qu'en présence du SC) de l'efficacité synaptique préfrontale, alors que l'absence de consolidation se manifeste par une dépression phasique de l'excitabilité préfrontale. Ces données indiquent, par conséquent, que la procédure d'extinction *massée* ne s'accompagne pas toujours d'un maintien à long terme de l'extinction. Cependant, si cette procédure est couplé à une potentialisation tonique (PLT) de l'efficacité synaptique préfrontale, on observe un maintien de l'extinction chez tous les animaux testés (SHF). Par ailleurs, notons aussi que l'absence de potentialisation tonique (induite par l'extinction de la peur apprise), au cours de l'expérience III, s'explique par le changement de protocole d'extinction *massée* entre l'expérience I du chapitre précédent (25 présentations du SC) et l'expérience III de ce chapitre (16 présentations du SC).



Fixé, Vassili Kandinsky, 1935,
huile sur toile, 73 x 60 cm, coll. part.

VI / IMPLICATION DU CORTEX PREFRONTAL MEDIAN DANS LES MECANISMES DE MAINTIEN DE L'EXTINCTION DE LA PEUR APPRISE : APPROCHE IMMUNOHISTOCHEMIQUE

Les études électrophysiologiques décrites dans les chapitres IV et V montrent que les synapses du CPFm participent, sous forme de changements durables de leur efficacité, au phénomène d'extinction de la peur apprise. Ainsi, ces travaux suggèrent que, au cours de l'extinction de la peur apprise, l'augmentation durable de l'efficacité synaptique préfrontale joue un rôle majeur dans le maintien (ou consolidation) de cette extinction alors que le maintien à long terme d'une dépression de l'efficacité synaptique préfrontale est associé à une récupération de la peur apprise.

Ces modifications électrophysiologiques durables (changements de type PLT ou DLT) ont également leur corrélat cellulaire et il est généralement admis que le phénomène de consolidation mnésique ou, en d'autres termes, le passage d'un système de mémoire à court terme à un système à long terme plus stable, nécessite l'expression des gènes effecteurs tardifs encodant des protéines responsables des modifications durables de la plasticité synaptique (Davis et Squire, 1984 ; Goelet et coll., 1986). L'expression de cette « vague » de gènes à réponse différée est régulée par des gènes rapidement inductibles (également appelés immediate early genes (IEG) ou proto-oncogènes), tels que *c-fos*, *zif268* et *c-Jun*. De nombreuses études ont montré que ces IEG ont une transcription qui est induite rapidement, mais de manière transitoire, par des stimulations extracellulaires, et que leur induction dépend de l'activation préalable (par des mécanismes de phosphorylation) de facteurs de transduction constitutifs, tels que le « cAMP response element binding » (CREB) ou le « serum response factor » (SRF) qui, en se liant aux sites CRE et SRF des promoteurs de gènes, vont initier la réponse transcriptionnelle des neurones et permettre les modifications à long terme. L'événement crucial entraînant l'activation de CREB est la régulation du domaine kinase-inductible (Gonzalez et coll., 1989 ; Gonzalez et Montminy, 1989) par une phosphorylation inductible de l'acide aminé Ser 133 (site régulateur positif). Cette phosphorylation peut être provoquée par différentes kinases dépendantes ou non du calcium, telles que la protéine kinase dépendante de l'AMPc (PKA), la mitogen activated protéine kinase (MAP Kinase), la calmoduline kinase IV et les différentes isoformes de la CamKII, qui sont mises en jeu par des voies de transduction spécifiques. Il est ainsi généralement admis que l'induction de la transcription des IEG peut s'effectuer par le biais de différents types de stimulations périphériques. Par exemple, les stimulations sensorielles périphériques (Herdegen et coll., 1991 ; Mack et Mack, 1992 ; Strassman et Vos, 1993) ou

l'administration aiguë de drogues de type cocaïne ou amphétamine (Self et Nestler, 1995) peuvent entraîner l'expression d'IEGs. Pour ce qui nous concerne, de nombreux travaux ont montré que la consolidation et la récupération mnésique induisaient l'activation de gènes *c-fos* et *zif268* (Sagar et coll., 1988 ; Anokhin et coll., 1991 ; Mileusnic et coll., 1996 ; Swank et coll., 1996 ; Milanovic et coll., 1998 ; Bontempi et coll., 1999 ; Hall et coll., 2001). Lors d'une tâche de conditionnement aversif, l'exposition à un stress (Campeau et coll., 1991 ; Smith et coll., 1992 ; Pezzone et coll., 1992,1993 ; Milanovic et coll., 1998 ; Radulovic et coll., 1998) déclenche l'activation de *c-fos* dans de nombreuses structures cérébrales, telles que l'amygdale, l'hippocampe, le noyau du tractus solitaire, l'hypothalamus et les structures corticales.

Les liens pouvant exister entre la plasticité synaptique et l'expression des gènes précoces ont également fait l'objet de nombreuses études. Ainsi, il apparaît que l'augmentation durable de l'efficacité synaptique, classiquement associée à la formation et au stockage à long terme de traces mnésiques (Davis et Squire, 1984 ; Bliss et Collingridge, 1993 ; Kandel, 1997 ; Milner et coll., 1998 ; Schafe et coll., 2001), est associée à des modifications d'expression d'IEG (Cole et coll., 1989 ; Wisden et coll., 1990 ; Worley et coll., 1993). Cependant, les travaux de Thomas et coll., (1994) ont mis en évidence, chez le rat éveillé, une activation spécifique de *zif268* à la suite de l'induction d'une PLT alors que les autres IEGs (*c-fos*, *jun-B* et *c-jun*) ne sont pas activés spécifiquement.

Partant de ces données sur les marqueurs d'activité neuronale associée au stress et à la consolidation mnésique, nous avons émis l'hypothèse que l'extinction de la peur apprise, qui implique également ces deux phénomènes (le *stress* qui s'atténue au fur et à mesure de l'extinction et la *consolidation* qui prend place pendant et/ou à la suite de la procédure d'extinction), puisse aussi s'accompagner, au niveau du CPFm, de changements d'expression des deux IEG : *c-fos* et *zif268*. Cette hypothèse est appuyée par les données de Campeau et coll., (1997) qui montrent que la réduction de la peur apprise (inhibition conditionnée) est associée à une augmentation significative de la synthèse du *c-fos* dans le CPFm. Cette donnée semble en accord avec nos observations électrophysiologiques puisque nous notons une potentialisation de l'efficacité synaptique préfrontale au cours de la réduction comportementale de la peur apprise (Chapitre IV et V).

Afin de vérifier notre hypothèse concernant l'implication de la potentialisation de l'efficacité synaptique préfrontale dans le maintien de l'extinction de la peur apprise, nous avons analysé grâce à la technique immunohistochimique les modifications d'immunoréactivité des deux IEG (*c-fos* et *zif268*) au cours de l'épreuve d'extinction de la RECI ainsi que lors de la phase de

consolidation de l'extinction (examinée par un test de rétention de l'extinction effectué une semaine après l'extinction totale de la peur apprise).

A/ Etude de l'immunoréactivité c-fos et zif268 au niveau du CPFm au cours de la tâche d'extinction de la peur apprise

1/ Matériel et méthodes

- Les animaux

Cette expérience est entièrement réalisée sur des souris mâles consanguines de la lignée C57 BL/6 JICO (n = 78), provenant du centre d'élevage IFFA-CREDO (Lyon). Une fois au laboratoire, les conditions d'entretien de ces animaux sont identiques à celles décrites dans le chapitre II (Méthodologie Générale).

- Protocole comportemental

Vingt-quatre heures après la période d'habituation (qui se déroule sur 3 jours consécutifs), les animaux sont séparés en 4 groupes (**Figure VI-1**). Le premier groupe (Gp1) est conditionné par une série de 5 présentations couplées « son-choc » (le protocole de conditionnement aversif a précédemment été décrit dans le chapitre II de cette thèse). Le deuxième groupe (Gp2) est exposé uniquement au son, alors que le troisième (Gp3) est exposé uniquement au choc. Enfin, le quatrième groupe, qui est un groupe témoin, ne reçoit aucun des stimulus (sonores, aversifs ou contextuels).

A la suite du conditionnement, les animaux des groupes 1-2 et 3-4 sont respectivement séparés en 5 sous-groupes (Gp1a-e et Gp2a-e) et 3 sous-groupes (Gp3c-e et Gp4c-e) (**Figure VI-IA**). Cinq heures après le conditionnement, les animaux, qui ont reçu une présentation sonore seule ou couplée au choc (Gp1c-e et Gp2c-e), sont exposés à 20 présentations du stimulus sonore dans un contexte différent de celui du conditionnement (contexte d'extinction). Les animaux n'ayant reçu que des chocs lors du conditionnement (Gp3c-e) sont placés dans le contexte d'extinction pour une durée équivalente, mais sans présentations sonores. Ce protocole est reproduit (deuxième séance d'extinction) le jour suivant pour les groupes 1, 2 et 3 (sous-groupes d-e). Trois groupes d'animaux (Gp1e, Gp2e, Gp3e) sont soumis au test de rétention de l'extinction (TRE : 4 présentations du son seul), effectué une semaine après la fin de l'extinction de la peur apprise. Les intervalles séparant les

présentations couplées « son-choc » ou les présentations du son seul varient entre 20 et 180 secondes. Les animaux sont sacrifiés soit à la suite du conditionnement (sous-groupes a et b), soit à la suite de la première (sous-groupes c) ou de la deuxième (sous-groupes d) séance d'extinction, ou enfin à la suite du TRE (sous-groupes e). Un schéma du protocole comportemental est reproduit sur la **Figure VI-1**.

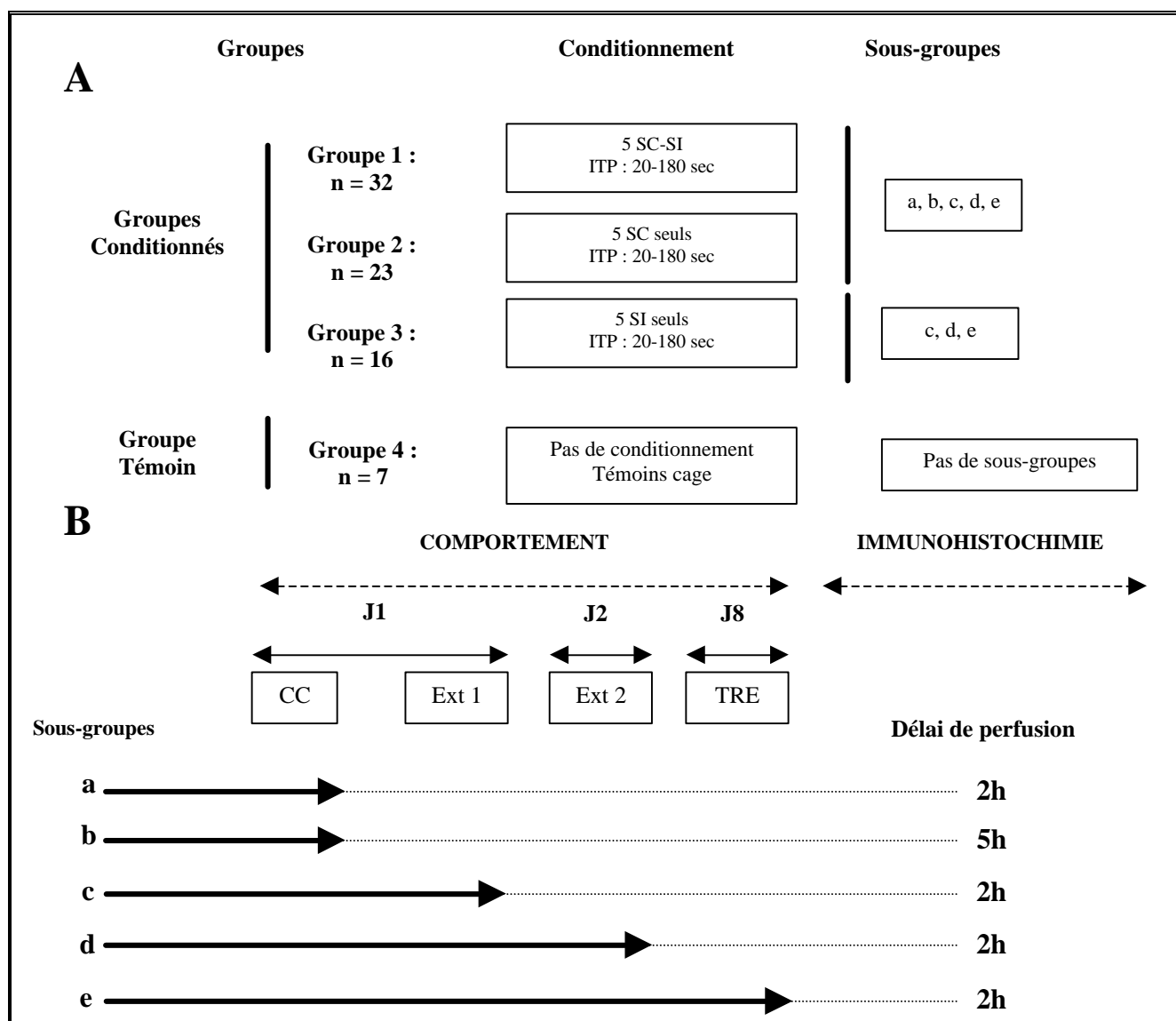


Figure VI-1 : Schéma représentant la répartition des groupes et sous-groupes (A), ainsi que le protocole comportemental utilisé pour les 5 sous groupes d'animaux (sous-groupes a-e) et les délais de perfusion des animaux (B). Le groupe 1 est normalement conditionné à exprimer la RECI suite aux présentations couplées « son-choc », le groupe 2 ne reçoit que le son lors du conditionnement, le groupe 3 ne reçoit que le choc lors du conditionnement et le groupe 4, qui est un groupe témoin n'est soumis à aucun des stimuli présents dans les autres cas (sonore, aversif ou contextuels). Les sous-groupes a et b sont sacrifiés soit 2h (a) ou 5h (b) après le conditionnement (J1). Les sous-groupes c et d sont respectivement sacrifiés 2h après la première (J1) et la deuxième (J2) séance d'extinction. Les animaux des sous-groupes e sont sacrifiés 2h après le TRE.(J8). (SC = stimulus conditionnel : le son ; SI = stimulus inconditionnel : le choc ; ITP= intervalle inter présentation ; CC = conditionnement ; Ext1 = première séance d'extinction ; Ext2 = deuxième séance d'extinction ; TRE = test de rétention de l'extinction).

2/ Immunohistochimie

- Protocole immunohistochimique

a/ Perfusion et coupe des cerveaux

Les animaux sont anesthésiés par injection intrapéritonéale d'avertine (tribromoéthanol, 10 ml/kg, ip) soit 2 heures après la fin du conditionnement (sous-groupes a), soit 5 heures après la fin du conditionnement (sous-groupes b), soit 2 heures après le début de l'extinction 1 (sous-groupes c) ou de l'extinction 2 (sous-groupes d) ou bien 2 heures après le début du TRE (sous-groupes e). Les cerveaux sont perfusés avec environ 50 ml de solution saline (NaCl 9g/l), puis avec 100 ml de liquide fixateur [paraformaldéhyde 4% dilué dans du tampon phosphate (PB : 0,1 M ; pH = 7,4)]. Les cerveaux sont ensuite rapidement prélevés et post-fixés par immersion dans le même fixateur à 4 °C pendant environ 16 h. Des coupes sériées de 50 µm d'épaisseur sont réalisées au vibratome et conservées dans du PB jusqu'à utilisation.

b/ Immunohistochimie

Les techniques immunohistochimiques utilisées au cours de ce travail ont précédemment fait l'objet d'une description détaillée dans le chapitre II (Méthodologie générale).

c/ Analyses immunohistochimiques

Les quantifications immunohistochimiques ont été évaluées à l'aide d'un logiciel d'acquisition et de traitement d'images (Biocom Visiolab 2000). Le microscope optique est couplé à une caméra permettant le repérage bidirectionnel des coupes. Après numérisation des images, une macro-commande informatique permet, au moyen d'une série de filtres successifs, la détection, l'incrémentation et la sélection des noyaux fos et zif positifs. Les résultats obtenus sont exprimés en nombre de noyaux positifs par mm². Pour chaque structure, le comptage est réalisé sur un minimum de 3 coupes successives. La quantification est effectuée dans les deux hémisphères, et une moyenne des valeurs obtenues est effectuée.

3/ Résultats

- Comportement

Les résultats comportementaux sont représentés sur la **Figure VI-II**.

Le niveau d'immobilité des animaux a été évalué au cours des 20 secondes correspondant à chaque émission du stimulus sonore (acquisition et extinction ; réponse émotionnelle conditionnée d'immobilisation : RECI), ainsi que durant les 20 secondes précédant la première émission sonore (réponse comportementale de base).

Au cours de l'acquisition (**Figure VI-IIA**), le niveau d'immobilité est faible (< 15 %) tout au long du conditionnement pour le groupe non conditionné ou groupe témoin [groupe 2 (son): $F_{5,70} = 1,468$, $p = ns$], ainsi que pour les groupes 1 (son-choc) et 3 (choc) avant le conditionnement (< 10 %). Une comparaison directe entre les 3 groupes avant le conditionnement (réponse basale) ne révèle pas de différence comportementale significative ($F_{2,45} = 2,970$, $p = ns$). Cependant, au cours des présentations ultérieures du couple son-choc, les animaux du groupe 1 présentent une augmentation progressive d'immobilité (RECI) en réponse au stimulus sonore. Une ANOVA (mesures répétées) à deux facteurs (conditions et présentations) met en évidence un effet significatif des conditions ($F_{1,32} = 44,138$, $p < 0,0001$), des présentations ($F_{4,128} = 17,561$, $p < 0,0001$), et une interaction significative entre les conditions et les présentations ($F_{4,128} = 23,575$, $p < 0,0001$). Par ailleurs, une analyse à un facteur (conditions) réalisée sur chaque présentation son-choc met en évidence un effet significatif à partir de la deuxième présentation du couple son-choc (toutes les valeurs de $p < 0,0001$; plus de 20 % de RECI). Aucune analyse n'est présentée pour le groupe 3 puisque les animaux de ce groupe n'ont pas reçu de stimulation sonore pendant le conditionnement.

Avant la première présentation sonore de la première séance d'extinction (**Figure VI-IIB**), le niveau d'immobilité exprimé par le groupe 1 est significativement différent de celui exprimé par le groupe témoin (groupe 1 vs groupe 2 : $F_{1,33} = 7,016$, $p < 0,05$). Par contre les groupes 2 et 3 ne diffèrent pas entre eux, tout comme les groupes 1 et 3 (toutes les valeurs de $p = ns$). Au fil des présentations successives du stimulus sonore, le groupe témoin (groupe 2, son) ne présente aucune immobilité notable (RECI < 15%). L'application du même protocole aux animaux du groupe 1 (son-choc) entraîne une diminution progressive de la RECI ($F_{3,54} = 4,263$, $p < 0,01$). Une ANOVA à deux facteurs (conditions et blocs) effectuée sur ces valeurs (les groupes ré-exposés au stimulus sonores) révèle un effet significatif des conditions ($F_{1,33} = 84,201$, $p < 0,0001$), des blocs ($F_{3,99} = 3,808$, $p < 0,05$) et une interaction significative entre les conditions et les blocs ($F_{3,99} = 3,287$, $p <$

0,05). Cependant, une analyse à un facteur réalisée avec les données du groupe 1, entre chaque bloc (5 présentations sonores par bloc), ne met en évidence un effet significatif qu'entre les blocs 1 et 2 et les blocs 1 et 4 (Bloc 1 vs Bloc 2 : $F_{1,18} = 8,351$, $p < 0,01$; Bloc 1 vs Bloc 4 : $F_{1,18} = 7,534$, $p < 0,05$).

Le comportement basal au cours des 20 secondes précédant la première présentation sonore de la deuxième séance d'extinction (extinction 2), n'est pas significativement différent entre les groupes ($F_{2,23} = 1,401$, $p = ns$; RECI $< 20\%$). L'émission sonore évoque encore un niveau élevé de RECI chez les animaux du groupe 1 (bloc 1 : $42,2 \pm 1,4\%$), qui diminue de façon significative au fil des présentations sonores ($F_{3,30} = 9,971$, $p < 0,0001$). Quant au groupe témoin (SC), nous notons un niveau d'immobilité qui reste faible et stable tout au long des présentations sonores ($F_{3,21} = 0,1324$, $p = ns$, RECI $< 20\%$). Une ANOVA à deux facteurs réalisée entre les conditions et les blocs sur ces données met en évidence un effet significatif des conditions ($F_{1,17} = 11,621$, $p < 0,01$), des blocs ($F_{3,51} = 8,690$, $p < 0,0001$), ainsi qu'une interaction significative entre les conditions et les blocs ($F_{3,51} = 3,446$, $p < 0,05$). Une analyse à un facteur (conditions) n'indique pas de différence significative entre les 2 groupes au cours du dernier bloc de présentations sonores ($F_{1,17} = 2,620$, $p = ns$), ainsi que lors du test de rétention de l'extinction effectué une semaine plus tard ($F_{1,9} = 0,069$, $p = ns$).

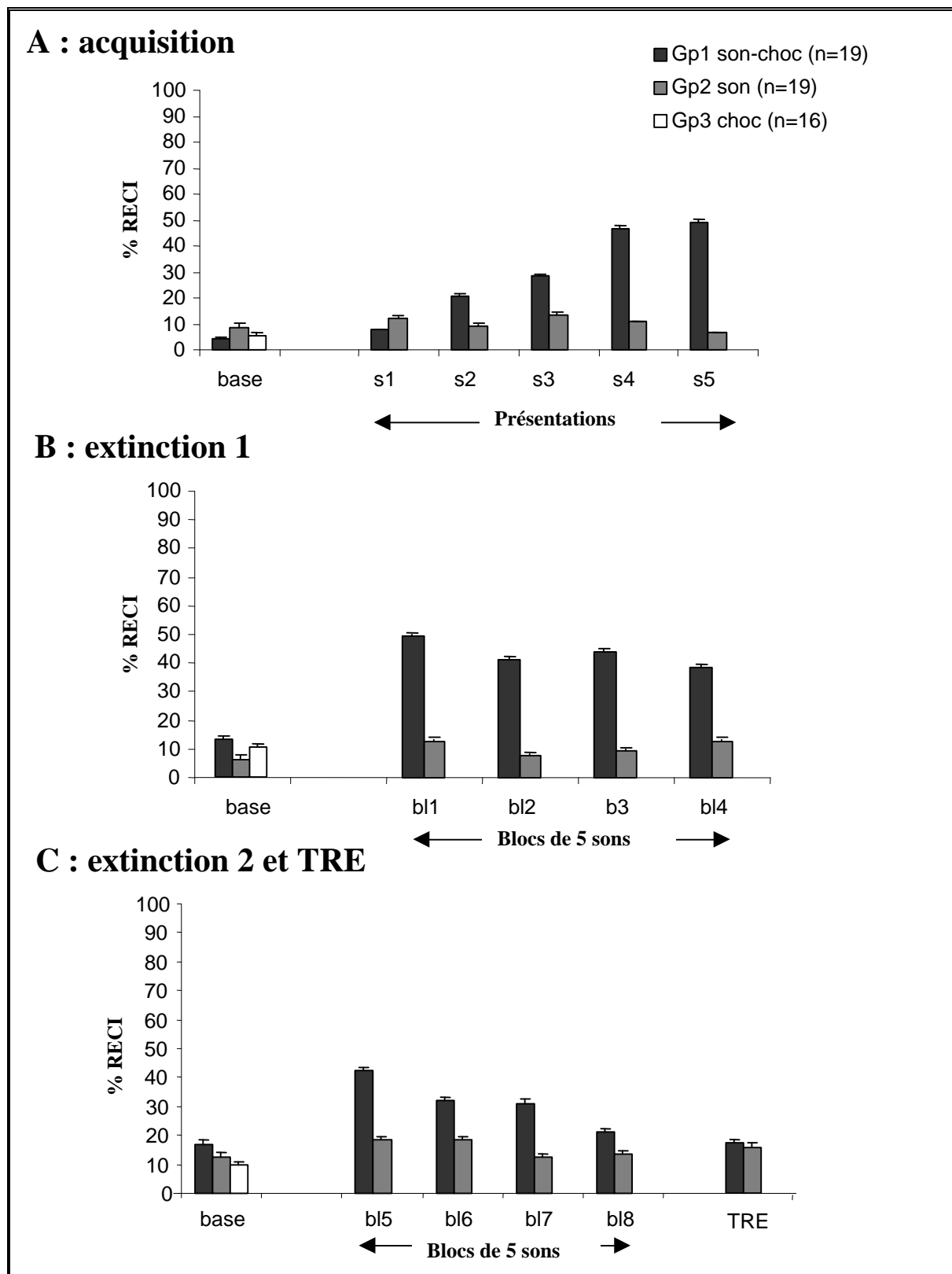


Figure VI-II : Histogrammes représentant l'immobilité basale (avant chaque épreuve : **A**, conditionnement ; **B**, Extinction 1 ; et **C**, Extinction 2 et TRE) ou conditionnelle (RECI). L'évaluation de l'immobilité basale concerne les 3 groupes (pour le groupe 2, cette évaluation est faite même pendant les présentations sonores), alors que la RECI ne concerne que les animaux du groupe 1 (son-choc).

- Immunohistochimie

*Analyse globale des résultats

Les analyses immunohistochimiques ont été réalisées soit 2 ou 5 heures après le conditionnement (analyses post-conditionnement), et également 2 heures après chaque séance d’extinction et du TRE. Les analyses effectuées entre les différents groupes portent sur deux structures, le CPFm et l'amygdale, qui sont impliquées ou potentiellement impliquées dans l'extinction de la peur apprise (Falls et coll., 1992 ; LaBar et coll., 1998 ; Corcoran et Maren, 2001 ; Quirk et coll., 2001 ; Lu et coll., 2001 ; Santini et coll., 2001 ; Vianna et coll., 2001 ; David et coll., 2002). Pour chaque structure, l'analyse immunohistochimique globale résulte d'une moyenne des valeurs obtenues sur les différentes sous-structures (**Tableau VI-I**). Enfin, d’autres analyses ont également été effectuées sur des structures témoins (notamment au niveau hippocampique avec l’analyse du gyrus dentelé, et des champs ammoniques CA1 et CA3). Dans ces structures contrôles nous n’avons observé aucune modification significative des immunoréactivités c-fos et zif268 dans les différents groupes après les différentes phases de test.

		Sous structures		
Structures	<i>Cortex Préfrontal médian</i>	Cortex infralimbique		Cortex prélimbique
	<i>Amygdale</i>	Noyau Basolatéral	Noyau central	Noyau latéral

Tableau VI-I : Tableau représentant les sous-structures constituant les deux structures principales analysées par immunohistochimie.

Une analyse globale des résultats (**Tableau VI-II**) met en évidence une augmentation significative des immunoréactivités c-fos et zif268 entre le groupe 1 (son-choc) et le groupe 4 (témoins cage), au cours du test post-conditionnement réalisé à 2 h (toutes les valeurs de $p < 0,01$), ainsi qu’au cours du test d’extinction 2 et du TRE (toutes les valeurs de $p < 0,05$). L’immunoréactivité c-fos entre les groupes 1 et 4 est également significativement différente pour

l'amygdale lors du deuxième test post-conditionnement réalisé à 5 h, ainsi que pour l'amygdale et le CPFm au cours de l'extinction 1. Des analyses parallèles portant sur zif268 montrent que le post-conditionnement à 2 h, l'extinction 2 et le TRE provoque également une augmentation significative d'immunoréactivité zif268 chez le groupe son-choc, alors que le test de post-conditionnement effectué à 5 h et l'extinction 1 ne révèlent pas de différence significative, que ce soit au niveau préfrontal ou amygdalien.

	Post-conditionnement 2 heures		Post-conditionnement 5 heures		Extinction 1		Extinction 2		TRE	
	c-fos	zif	c-fos	Zif	c-fos	Zif	c-fos	Zif	c-fos	Zif
CPFm	930 ± 35 ***	520 ± 15 ***	ns	ns	582 ± 8 ***	ns	1044 ± 37 ***	830 ± 17 ***	1142 ± 8 ***	1125 ± 42 ***
Amygdale	470 ± 49 ***	207 ± 1 ***	217 ± 14 ***	ns	482 ± 40 ***	ns	627 ± 24 ***	204 ± 27 *	955 ± 52 ***	351 ± 9 ***

Tableau VI-II : Pourcentage (\pm erreur standard) d'immunoréactivité c-fos et zif268 entre le groupe 1 (son-choc) et le groupe 4 (témoins) pour deux structures principales (CPFm, et Amygdale) au cours des tests post-conditionnement (2 heures et 5 heures), des séances d'extinction (extinction 1 et 2) et du test de rétention de l'extinction (TRE). (***) : $p < 0,001$; ** : $p < 0,01$; * : $p < 0,05$; ns : non significatif).

Lorsque les analyses sont effectuées entre le groupe 1 (son-choc) et le groupe 2 (son) (**Tableau VI-III**), nous n'avons pas globalement détecté d'activation significative de c-fos et zif268 dans les deux structures après les séances de post-conditionnement à 2 h et 5 h. Par contre, il existe une activation significative des immunoréactivités c-fos et zif268 au niveau du CPFm (toutes les valeurs de $p < 0,05$) lors des séances d'extinction 1 et 2 et également après le TRE. Cependant, il apparaît que les immunoréactivités c-fos et zif268 varient de façon opposée entre les deux groupes (son-choc et son) entre l'extinction 1 (diminution d'immunoréactivité pour le groupe son-choc par rapport au groupe son) et l'extinction 2 (augmentation d'immunoréactivité pour le groupe son-choc par rapport au groupe son).

En ce qui concerne l'amygdale, une différence significative entre les deux groupes est également observée au cours de l'extinction 2 pour le c-fos ($p < 0,05$) et au cours du TRE pour les immunoréactivités c-fos et zif268 (toutes les valeurs de $p < 0,05$).

	Post- conditionnement 2 heures		Post- conditionnement 5 heures		Extinction 1		Extinction 2		TRE	
	c-fos	Zif	c-fos	Zif	c-fos	Zif	c-fos	Zif	c-fos	Zif
CPFm	96 ± 7 **	ns	ns	ns	-40 ± 1 ***	-67 ± 7 ***	39 ± 1 *	69 ± 3 ***	47 ± 1 ***	65 ± 6 ***
Amygdale	72 ± 8 *	ns	ns	ns	ns	ns	45 ± 6 *	ns	48 ± 1 *	95 ± 4 ***

Tableau VI-III : Pourcentage (\pm erreur standard) d'immunoréactivité c-fos et zif268 entre le groupe 1 (son-choc) et le groupe 2 (son) pour deux structures principales (CPFm et Amygdale) au cours des tests post-conditionnement (2 heures et 5 heures), des séances d'extinction (extinction 1 et 2) et du TRP. (***) : $p < 0,001$; ** : $p < 0,01$; * : $p < 0,05$; ns : non significatif).

Ces premières analyses suggèrent : (i) une expression transitoire de c-fos et zif268 au niveau des structures étudiées après le conditionnement avec un retour vers des valeurs basales avant le début de l'extinction ; (ii) des modifications de l'immunoréactivité des deux IEG au cours des séances d'extinction entre les groupes témoins (groupe son et groupe contrôle) et le groupe conditionné (son-choc) au niveau de chaque structure étudiée et (iii) un maintien de ces modifications lors du test de rétention de l'extinction effectué une semaine après l'extinction totale de la peur apprise.

*Analyses détaillées des résultats

Ces analyses ont été effectuées entre les groupes 1 (son-choc) et 2 (son) sur les structures ayant présenté des modifications d'immunoréactivité lors des analyses globales après les tests d'extinction (séances 1 et 2) et le TRE.

- Tests d'extinction

Les analyses statistiques indiquent qu'il existe une activation significative de c-fos et zif268 dans toutes les sous-structures étudiées après les séances d'extinction 1 et 2 pour les groupes *son-choc* et *son* en comparaison au groupe *témoin* (toutes les valeurs de $p < 0,05$).

Cependant, les analyses statistiques réalisées sur l'ensemble des données c-fos et zif268 indiquent une absence de différence significative entre les groupes 2 et 3 (groupe *son* vs groupe *choc*) sur les deux séances d'extinction, ceci pour l'ensemble des structures considérées (**Figure VI-III**, toutes les valeurs de $p > 0,05$).

La **Figure VI-III** met en évidence une réduction massive significative de l'immunoréactivité c-fos et zif268 au niveau prélimbique (PRE) (**c-fos** : -44 ± 1 % ; **zif268** : -67 ± 14 %) et infralimbique (INFRA) (**c-fos** : -35 ± 2 % ; **zif268** : -68 ± 18 %), ainsi qu'une augmentation significative de l'immunoréactivité c-fos au niveau du noyau latéral (LA) de l'amygdale (**c-fos** : 51 ± 2 %) 2 heures après la première séance d'extinction.

Une ANOVA à deux facteurs (conditions et structures) réalisées sur les valeurs c-fos et zif268 au cours de l'extinction 1 (**Figure VI-III A**) entre les groupes *son-choc* et *son* révèle un effet significatif des conditions (**c-fos** : $F_{1,14} = 9,654$, $p = 0,0077$; **zif268** : $F_{1,12} = 41,548$, $p < 0,0001$), des structures analysées (**c-fos** : $F_{2,28} = 63,993$, $p < 0,0001$; **zif268** : $F_{1,12} = 39,405$, $p < 0,0001$), et de l'interaction entre les conditions et les structures (**c-fos** : $F_{2,28} = 27,123$, $p < 0,0001$; **zif268** : $F_{1,12} = 9,364$, $p = 0,0099$). Plus précisément, une comparaison directe entre les groupes 1 et 2 pour chaque structure analysée révèle une différence significative des immunoréactivités c-fos et zif268 pour le cortex INFRA (**c-fos** : $F_{1,14} = 11,928$, $p = 0,0039$; **zif268** : $F_{1,12} = 18,572$, $p = 0,0010$) et le PRE (**c-fos** : $F_{1,14} = 20,156$, $p = 0,0005$; **zif268** : $F_{1,12} = 40,345$, $p < 0,0001$). De plus, nous observons une différence significative d'immunoréactivité c-fos entre les deux groupes pour le LA ($F_{1,14} = 10,407$, $p = 0,0061$).

Au niveau du CPFm, la baisse d'activation des deux IEG constatée après l'extinction 1 s'oppose à une augmentation d'activation après l'extinction 2 pour le groupe *son-choc* en comparaison au groupe *son* (**Figure VI-III B**) (PRE : **c-fos** : 61 ± 3 % ; **zif268** : 66 ± 2 % ; INFRA : **zif268** : 74 ± 6 %). De même, il existe une augmentation d'activation significative de c-fos au niveau du LA et du noyau basolatéral amygdalien (BLA) après l'extinction 2 pour le groupe *son-choc* en comparaison au groupe *son* (LA : **c-fos** : 61 ± 11 % ; BLA : **c-fos** : 63 ± 4 %). Une ANOVA à deux

facteurs (conditions et structures) effectuée sur les valeurs c-fos et zif268 obtenues au cours de la deuxième séance d'extinction pour les groupes 1 et 2 (**Figure VI-III B**) révèle un effet significatif des conditions (**c-fos** : $F_{1,10} = 16,898$, $p = 0,0021$; **zif268** : $F_{1,12} = 19,960$, $p = 0,0008$), des structures analysées (**c-fos** : $F_{2,20} = 70,536$, $p < 0,0001$; **zif268** : $F_{1,12} = 59,686$, $p < 0,0001$) et une interaction significative entre les conditions et les structures pour le c-fos ($F_{2,20} = 8,230$, $p = 0,0025$), mais pas pour le zif268 ($F_{1,12} = 3,166$, $p = ns$). En outre, une comparaison directe entre les groupes considérés révèle une activation significative de l'immunoréactivité c-fos pour le PRE ($F_{1,15} = 9,027$, $p = 0,0089$) et également pour le BLA et le LA (respectivement : $F_{1,15} = 8,663$, $p = 0,0101$ et $F_{1,15} = 8,093$, $p = 0,0174$). L'immunoréactivité zif268 est également significativement différente entre les groupes 1 et 2 pour les cortex INFRA et PRE (respectivement : $F_{1,12} = 10,866$, $p = 0,0064$ et $F_{1,12} = 26,069$, $p = 0,0003$).

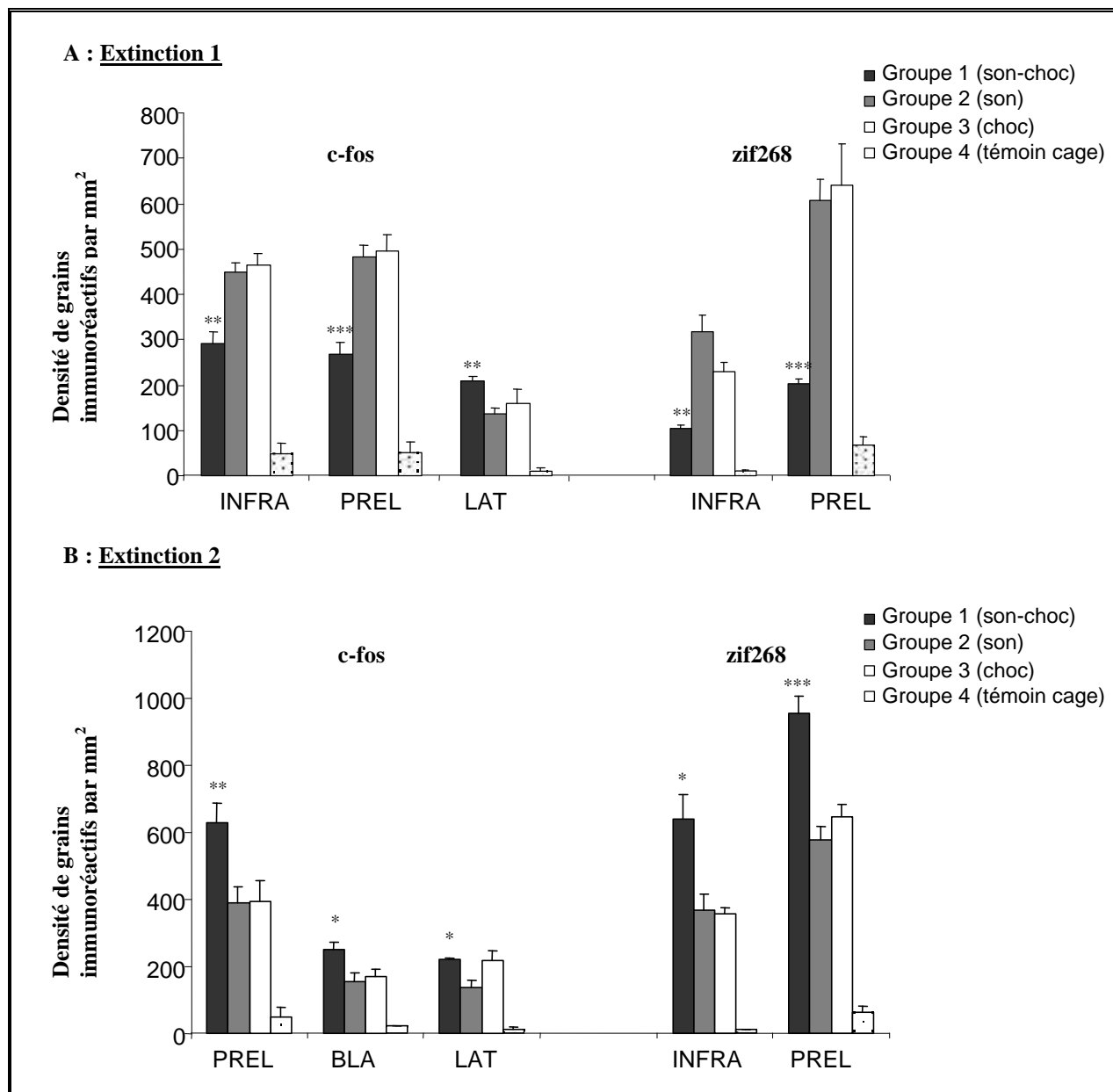


Figure VI-III : Graphique représentant la densité moyenne (\pm erreur standard) d'immunoréactivité c-fos et zif268 par mm² de tissu étudié pour la première (A) et de la deuxième (B) séance d'extinction au niveau de l'aire prélimbique (PRE), infralimbique (INFRA), du noyau latéral (LA) et basolatéral (BLA) de l'amygdale pour les groupes 1 (son-choc), 2 (son), 3 (choc) et 4 (témoin). (Les astérisques indiquent les différences significatives observées entre le groupe 1 (son-choc) et le groupe 2 (son) : *** : $p < 0,001$; ** : $p < 0,01$; * : $p < 0,05$).

L'ensemble de ces résultats indique que la première séance d'extinction induit une diminution significative des immunoréactivités c-fos et zif268 au niveau des cortex PRE et INFRA pour le groupe *son-choc* en comparaison avec le groupe *son*. A l'opposé, la deuxième séance d'extinction induit une augmentation significative de ces deux IEG au niveau des mêmes aires corticales pour le groupe *son-choc*. Au niveau des sous-structures amygdaliennes, les deux séances

d'extinction provoquent une augmentation d'immunoréactivité c-fos dans le LA, alors que seule l'extinction 2 induit une activation de c-fos dans le BLA.

- Test de rétention de l'extinction (TRE)

Une comparaison directe entre les groupes 1 et 4 (témoins cages) révèle que l'activation de c-fos et zif268 est significative dans chaque structure après le TRE (toutes les valeurs de $p < 0,0001$). Par ailleurs, les analyses statistiques effectuées sur les valeurs c-fos et zif268 (**Figure VI-IVA et B**) ne révèlent pas de différence significative entre les groupes 2 (*son*) et 3 (*choc*) pour l'ensemble des structures considérées (toutes les valeurs de $p > 0,05$). La **Figure VI-IV** représente les différences existant pour les immunoréactivités c-fos et zif 268 entre les groupes 1 (*son-choc*) et 2 (*son*) sur l'ensemble des structures étudiées au cours du TRE.

Nous observons une activation de c-fos et zif268 pour l'ensemble du CPFm. Une ANOVA à deux facteurs (groupes et structures) réalisées sur ces valeurs (c-fos et zif268) pour les groupes 1 (*son-choc*) et 2 (*son*) indique un effet significatif des groupes (**c-fos** : $F_{1,12} = 60,764$, $p < 0,0001$; **zif268** : $F_{1,13} = 36,125$, $p < 0,0001$), des structures (**c-fos** : $F_{2,24} = 14,559$, $p < 0,0001$; **zif268** : $F_{2,26} = 43,703$, $p < 0,0001$), de l'interaction groupes x structures pour le c-fos ($F_{2,24} = 5,960$, $p < 0,01$), mais pas pour les valeurs zif268 ($F_{2,26} = 2,072$, $p = ns$). Une analyse détaillée réalisée entre les deux groupes sur chaque structure révèle une différence significative d'immunoréactivité c-fos et zif268 pour le cortex INFRA (**c-fos** : $F_{1,12} = 20,421$, $p < 0,001$; **zif268** : $F_{1,13} = 18,738$, $p < 0,001$) ainsi que pour le PRE (**c-fos** : $F_{1,12} = 38,514$, $p < 0,0001$; **zif268** : $F_{1,13} = 20,496$, $p < 0,001$).

Par ailleurs, au niveau amygdalien, nous notons également une augmentation significativement différente de l'immunoréactivité c-fos pour le BLA ($91 \pm 7\%$; $F_{1,12} = 13,255$, $p < 0,01$), ainsi qu'une augmentation de l'immunoréactivité zif268 au niveau du LA ($57 \pm 2\%$; $F_{1,13} = 28,869$, $p = 0,0001$).

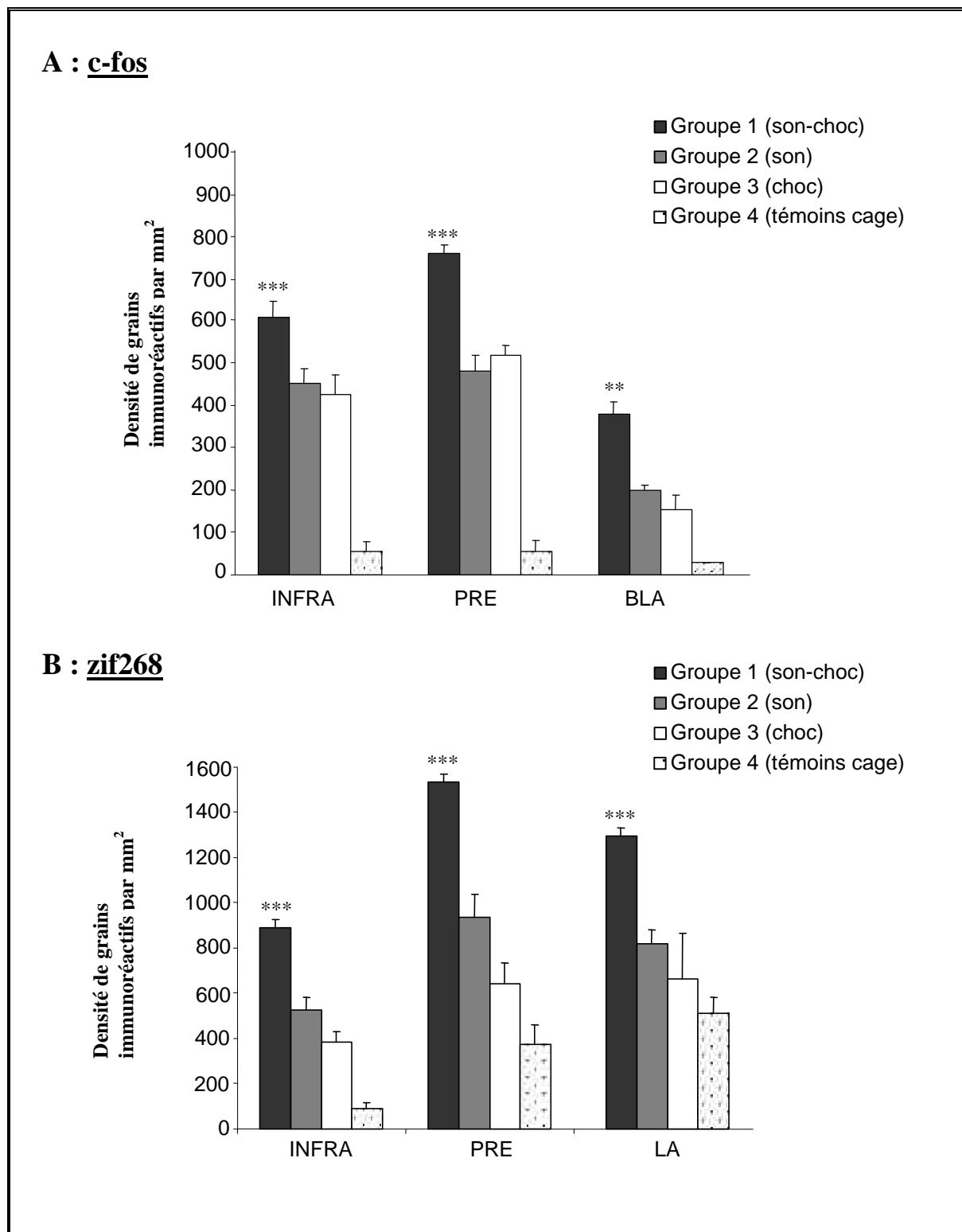


Figure VI-IV : Graphique représentant la densité moyenne (\pm erreur standard à la moyenne) d'immunoréactivité c-fos (A) et zif268 (B) par mm^2 de tissu étudié pour le test de rétention de l'extinction au niveau de l'aire prélimbique (PRE), infralimbique (INFRA), du noyau latéral (LA), et basolatéral (BLA) de l'amygdale pour les groupes 1 (son-choc), 2 (son), 3 (choc) et 4 (témoins). (Les astérisques indiquent les différences significatives observées entre le groupe 1 (son-choc) et le groupe 2 (son) : *** : $p < 0,001$; ** : $p < 0,01$; * : $p < 0,05$).

L'ensemble de ces analyses indique que le test de retour de la peur provoque une augmentation massive des immunoréactivités c-fos et zif268 dans le cortex préfrontal (PRE et INFRA) et également dans le complexe basolatéral amygdalien (BLA et LA).

***Analyses comparatives réalisées entre les 2 séances d'extinction et le TRE**

- Analyses des variations d'immunoréactivité c-fos

La **Figure VI-V** représente une normalisation du groupe 1 (son-choc) par rapport au groupe 2 (*son*) pour les séances d'extinction 1 et 2 ainsi que pour la séance de TRE. Les données représentent les variations d'immunoréactivité c-fos exprimées en pourcentage entre les deux groupes.

- **Cortex préfrontal médian**

Une ANOVA à deux facteurs (conditions et séances) réalisée entre les deux séances d'extinction met en évidence un effet significatif des séances pour le PRE ($F_{1,13} = 12,951$, $p = 0,0036$) et de l'interaction entre les conditions et les séances pour les PRE ($F_{1,13} = 29,755$, $p = 0,0001$) et INFRA ($F_{1,13} = 9,205$, $p = 0,0096$).

La même analyse réalisée entre l'extinction 2 et le TRE révèle un effet significatif des conditions pour le PRE ($F_{1,12} = 23,846$, $p < 0,001$). Cette analyse réalisée entre l'extinction 1 et le TRE indique au niveau préfrontal un effet significatif des séances (PRE : $F_{1,12} = 59,522$, $p < 0,0001$; INFRA : $F_{1,12} = 12,618$, $p < 0,01$), ainsi qu'une interaction conditions x séances significative (PRE : $F_{1,12} = 97,811$, $p < 0,0001$; INFRA : $F_{1,12} = 30,750$, $p = 0,0001$).

- **Amygdale**

Une analyse de type ANOVA à deux facteurs (conditions et séances) réalisée sur ces données entre les séances d'extinction 1 et 2 met en évidence un effet significatif des conditions pour le LA ($F_{1,10} = 7,689$, $p = 0,0197$) et de l'interaction conditions x séances pour le BLA ($F_{1,13} = 12,339$, $p = 0,0038$). La même analyse réalisée entre l'extinction 1 et le TRE révèle un effet significatif des conditions pour le BLA ($F_{1,12} = 26,197$, $p = 0,0003$) et le LA ($F_{1,12} = 13,601$, $p < 0,01$) ainsi qu'un effet significatif des séances pour le noyau LA ($F_{1,12} = 19,238$, $p = 0,0009$). Enfin,

cette analyse réalisée entre l'extinction 1 et le TRE indique un effet significatif des conditions et des séances pour le LA (respectivement : $F_{1,12} = 7,524$, $p = 0,0178$ et $F_{1,12} = 17,259$, $p = 0,0013$). L'interaction conditions x séances est également significativement différente pour le BLA ($F_{1,12} = 7,939$, $p = 0,05$).

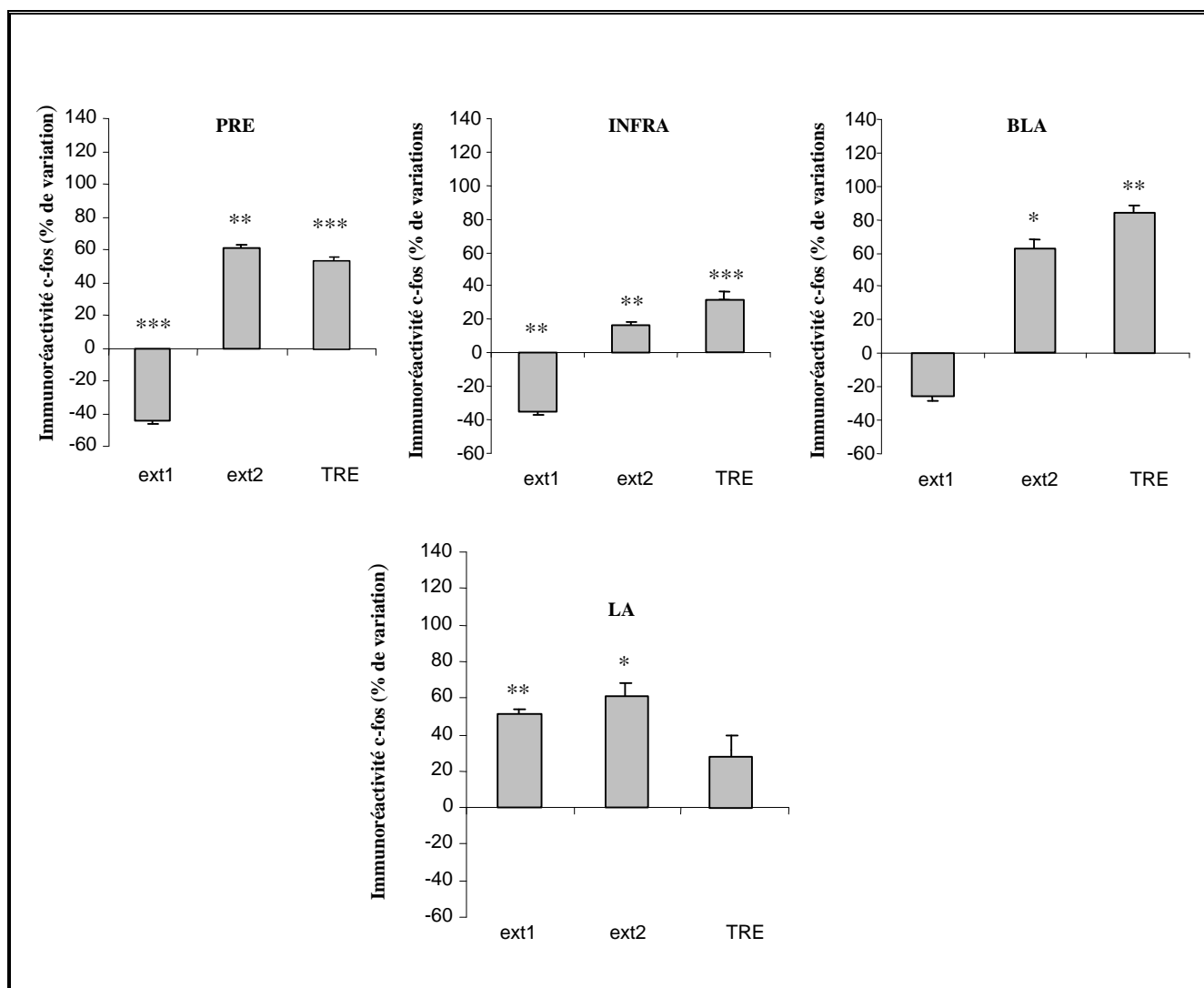


Figure VI-V : Graphique représentant les variations exprimées en pourcentage (\pm erreur standard) d'immunoréactivité c-fos entre le groupe 1 (son-choc) et le groupe 2 (son) pour les deux séances d'extinction et le TRE au niveau de l'aire prélimbique (PRE), infralimbique (INFRA), du noyau latéral (LA), et basolatéral (BLA). (***) : $p < 0,001$; ** : $p < 0,01$; * : $p < 0,05$).

Ces analyses révèlent que la diminution de l'activation de c-fos constatée au cours de l'extinction 1 s'oppose à une augmentation d'immunoréactivité le jour suivant (extinction 2) dans le CPFm (PRE et INFRA) ainsi que dans le BLA. Cette potentialisation apparaît également au cours

du TRE pour le CPFm et le BLA. Contrairement aux structures précédentes, on constate que l'augmentation de l'immunoréactivité c-fos est constante au cours des trois séances pour le LA.

- Analyses des variations d'immunoréactivité zif 268.

Les données normalisées (groupe 1 vs groupe 2) concernant le zif268 sont représentées **Figure VI-VI**.

- Cortex préfrontal médian

Une ANOVA à deux facteurs (conditions et séances) réalisée sur les données zif268 entre les séances d'extinction 1 et 2 met en évidence au niveau préfrontal un effet significatif des deux séances (**PRE** : $F_{1,11} = 61,788$, $p < 0,0001$; **INFRA** : $F_{1,11} = 23,230$, $p = 0,0005$) et de l'interaction conditions x séances (**PRE** : $F_{1,11} = 63,773$, $p < 0,0001$; **INFRA** : $F_{1,11} = 16,790$, $p = 0,0018$).

La même analyse réalisée entre la deuxième séance d'extinction et le TRE révèle un effet des conditions pour le CPFm (**PRE** : $F_{1,7} = 104,620$, $p < 0,0001$; **INFRA** : $F_{1,7} = 20,039$, $p = 0,0029$), ainsi qu'un effet significatif de l'interaction entre les conditions et les séances pour le PRE ($F_{1,7} = 12,332$, $p = 0,0098$).

La comparaison entre la première séance d'extinction et le TRE révèle au niveau préfrontal un effet significatif des conditions (**PRE** : $F_{1,8} = 18,907$, $p = 0,0025$; **INFRA** : $F_{1,8} = 6,870$, $p = 0,0306$), et des séances (**PRE** : $F_{1,8} = 126,287$, $p < 0,0001$; **INFRA** : $F_{1,8} = 43,600$, $p = 0,0002$). Enfin, l'interaction *Conditions* x *Séances* est également significative (**PRE** : $F_{1,8} = 166,682$, $p < 0,0001$; **INFRA** : $F_{1,8} = 49,087$, $p = 0,0001$).

- Amygdale

Une ANOVA à deux facteurs (conditions et séances) réalisées entre les séances d'extinction 1 et 2 révèle un effet significatif des deux séances pour le noyau central amygdalien (CE) ($F_{1,11} = 8,203$, $p = 0,0154$) et le LA ($F_{1,9} = 5,888$, $p = 0,0382$).

La même analyse réalisée sur l'immunoréactivité zif268 dans les structures de l'amygdale entre l'extinction 1 et le TRP indique un effet significatif des conditions pour le LA ($F_{1,8} = 8,128$, $p = 0,0214$) ainsi qu'un effet significatif des séances pour le complexe basolatéral (**BLA** : $F_{1,8} = 13,915$, $p = 0,0058$; **LA** : $F_{1,18} = 47,261$, $p = 0,0001$), et le CE ($F_{1,8} = 14,318$, $p < 0,0054$). Par

ailleurs, l'interaction *Conditions* x *Séances* est également significative pour le LA ($F_{1,8} = 19,936$, $p = 0,0021$).

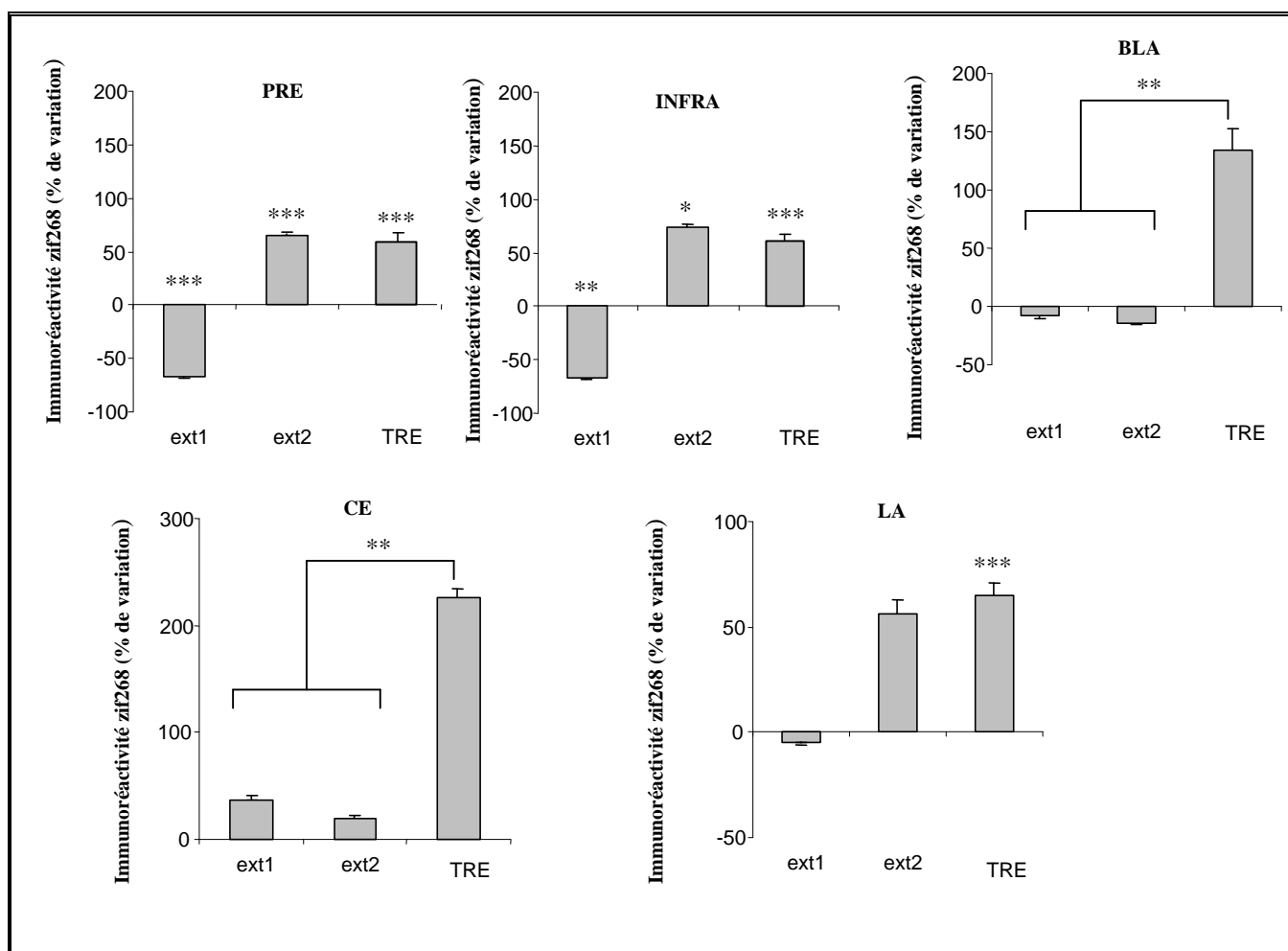


Figure VI-VI : Graphique représentant les variations exprimées en pourcentage (\pm erreur standard) d'immunoréactivité zif268 entre le groupe 1 (son-choc) et le groupe 2 (son) pour les deux séances d'extinction et le TRE au niveau de l'aire prélimbique (PRE), infralimbique (INFRA), du noyau latéral (LA), basolatéral (BLA) et central (CE) de l'amygdale. (***) : $p < 0,001$; ** : $p < 0,01$; * : $p < 0,05$).

Ces analyses mettent en évidence une diminution de l'activation zif268 au cours de la première séance d'extinction. Cette diminution est suivie d'une augmentation d'activation de zif268 au cours de l'extinction 2 et du TRE au niveau du CPFm (PRE et INFRA). Au niveau des structures amygdaliennes, on constate une augmentation massive de l'immunoréactivité zif268 au cours de l'extinction 2 (LA) et du TRE (CE, BLA et LA).

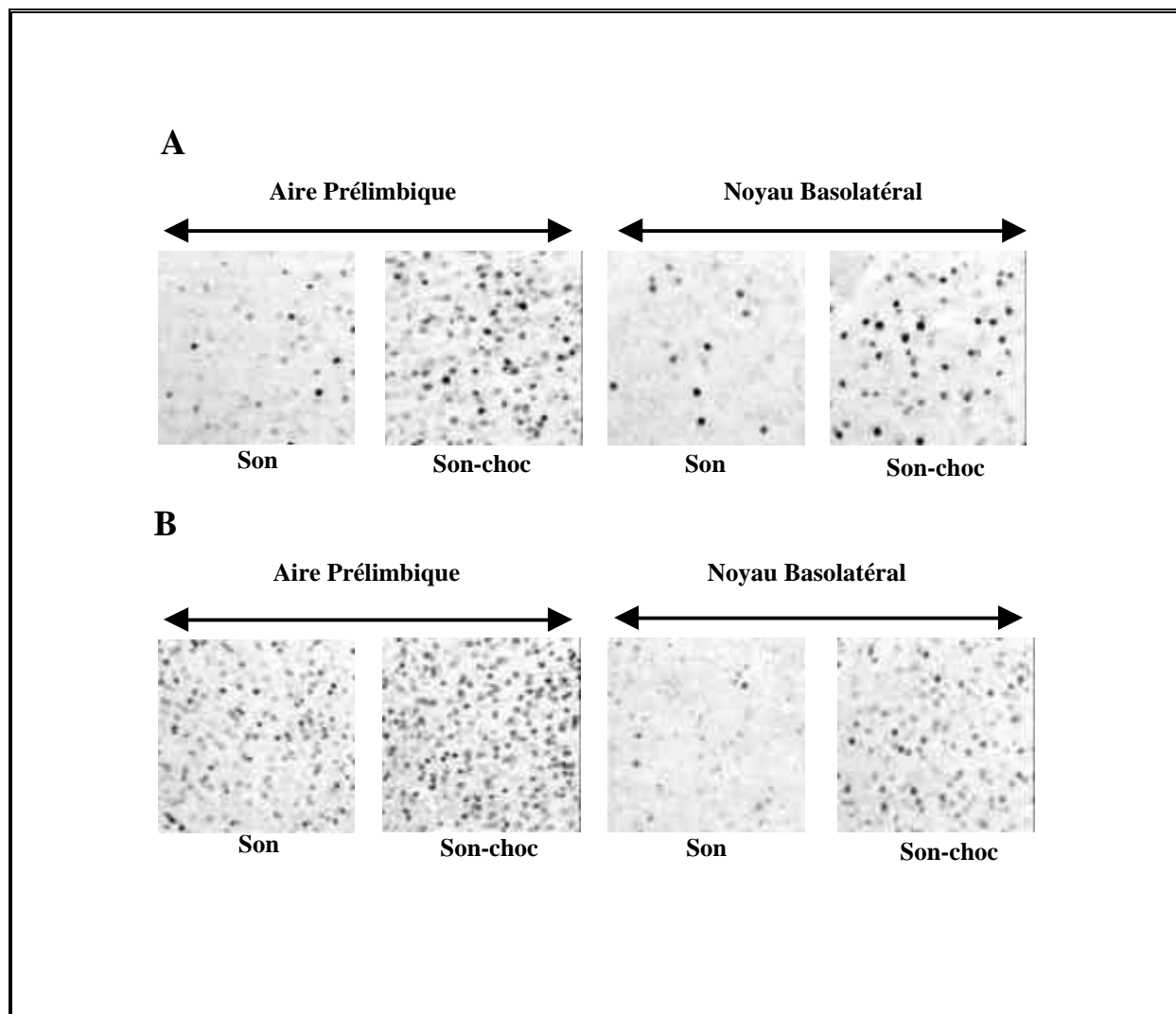


Figure VI-VII : Illustrations des immunoréactivités *c-fos* (A) et *zif268* (B) observées au niveau de l'aire prélimbique et du noyau basolatéral de l'amygdale pour les groupes *son* et *son-choc* au cours du test de ré extinction.

En résumé, l'ensemble des résultats montre que 5 heures après le conditionnement aversif, l'activation de *c-fos* et *zif268* dans les différentes structures étudiées pour les groupes *son-choc* et *son* est similaire à celle des animaux témoins.

La première séance d'extinction induit une diminution d'activation de *c-fos* et *zif268* dans les aires PRE et INFRA du CPFm pour le groupe *son-choc* en comparaison au groupe *son*. Par contre, la répétition de ce protocole le jour suivant (deuxième séance d'extinction) supprime la diminution d'immunoréactivité provoquée par les présentations du SC seul, et se traduit par une augmentation préfrontale de cette immunoréactivité. Cette augmentation significative des immunoréactivités *c-fos* et *zif268* est également présente lors du TRE réalisé une semaine après l'extinction complète de la RECI. Au niveau amygdalien, nous avons observé une différenciation

temporelle entre l'activation c-fos dans le BLA et le LA (le LA étant activé dès la première séance d'extinction, alors que le BLA ne s'active qu'à partir de la seconde séance), alors que l'immunoréactivité zif268 met en évidence une implication du BLA et du CE uniquement lors du TRE et une implication du LA à partir de l'extinction 2.

B/ Discussion.

1/ Immunoréactivité préfrontale c-fos et zif268 au cours de l'extinction de la peur apprise.

Les approches lésionnelles (Santini et coll., 2001) et électrophysiologiques (Herry et Garcia, 2002) révèlent une implication du CPFm dans les processus de maintien de l'extinction de la peur apprise. Chez l'animal intact, nous avons noté que la présentation d'un SC sonore, précédemment associé à l'administration de chocs électriques, induit une dépression de l'efficacité synaptique préfrontale (Herry et coll., 1999 ; Herry et Garcia, 2002). Toutefois, si cette présentation est faite de façon répétée en 2 séances, nous notons une conversion de la dépression en potentialisation de l'efficacité synaptique préfrontale (voir également chapitre V). Nos données immunohistochimiques sont en accord avec nos observations électrophysiologiques. En effet, la baisse de l'excitabilité synaptique préfrontale se reflète sur le plan immunohistochimique par une baisse des immunoréactivités c-fos et zif268 (première séance d'extinction), alors que la potentialisation de l'excitabilité synaptique préfrontale se couple à une augmentation des immunoréactivités de ces mêmes IEG dans le CPFm (deuxième séance d'extinction). Sur le plan électrophysiologique, nous avons également noté que la réexposition des souris au SC sonore, une semaine après l'extinction de la RECI (TRE), réactive la potentialisation de l'efficacité synaptique préfrontale chez les animaux ne présentant pas de RECI. Ces observations ont également été confirmées par l'analyse immunohistochimique qui révèle une réactivation préfrontale de l'augmentation des immunoréactivités c-fos et zif268 chez des animaux présentant un maintien de l'extinction une semaine après la procédure d'élimination de la peur apprise. Cependant, au cours de nos travaux électrophysiologiques (Chapitre V), nous avons constaté qu'une partie des animaux soumis au protocole d'extinction présentait un retour « aversif » de la dépression de l'efficacité synaptique préfrontale lors du TRE. En effet, chez ces animaux, cette dépression était corrélée avec une réactivation de la RECI. Nos données immunohistochimiques ne nous ont pas permis d'observer un tel phénomène. Cette différence est probablement liée au fait que, pour l'analyse

immunohistochimique, nous avons utilisé un nombre supérieur de SC au cours de la procédure d'extinction ce qui a pu entraîner une acquisition plus stable (consolidation) de l'extinction de la peur apprise, d'où une absence de réactivation de la RECI.

Nos résultats immunohistochimiques sont également en accord avec d'autres données de la littérature concernant les variations des immunoréactivités c-fos et zif268. Par exemple, les travaux de Campeau et coll. (1997) mettent en évidence une augmentation préfrontale de l'immunoréactivité c-fos au cours d'une procédure de réduction de la peur apprise. De même, nos études sur la consolidation de l'extinction ou la récupération mnésique de l'extinction, ainsi que de nombreux travaux, indiquent une forte corrélation entre l'augmentation des immunoréactivités c-fos et zif268 et les phénomènes de consolidation (Sagar et coll., 1988 ; Anokhin et coll., 1991 ; Mileusnic et coll., 1996 ; Swank et coll., 1996 ; Milanovic et coll., 1998 ; Bontempi et coll., 1999) et de récupération mnésique (Hall et coll., 2001).

Sachant qu'il existe une bonne corrélation entre l'activation des IEG c-fos et zif268 et les phénomènes de plasticité synaptique, (Cole et coll., 1989 ; Wisden et coll., 1990 ; Worley et coll., 1993), nous pouvons envisager que l'augmentation préfrontale durable de la synthèse de ces IEG reflète les modifications à long terme de l'efficacité synaptique préfrontale. Enfin, l'augmentation préfrontale de l'immunoréactivité des IEG ainsi que le maintien à long terme d'une PLT au niveau du CPFm sont associés à une réduction massive de la peur apprise (séance d'extinction n° 2 et TRE), ce qui suggère que les modifications cellulaires (PLT durable) ou moléculaires (activation massive des gènes précoces immédiats) à long terme ou bien leur réactivation, soient nécessaires à la transformation d'une mémoire labile (mémoire à court terme) en une mémoire plus stable (mémoire à long terme, phénomène de consolidation) de l'extinction de la peur apprise.

2/ Variations des immunoréactivités c-fos et zif268 dans le complexe basolatéral de l'amygdale au cours de l'extinction de la peur apprise

Les noyaux du complexe basolatéral amygdalien (LA, BLA et basomédian) ont été largement impliqués dans l'acquisition, l'expression et la consolidation (Killcross et coll., 1997 ; Quirk et coll., 1997 ; Fanselow et LeDoux, 1999 ; Gelowitz et Kokkinidis, 1999 ; Schafe et coll., 2000 ; Hongjoo et coll., 2001 ; Rodrigues et coll., 2001 ; Schafe et coll., 2001 ; Walker et Davis, 2002) de la peur apprise. Par ailleurs, des données pharmacologiques et d'imagerie cérébrale récentes (LaBar et coll., 199 ; Lu et coll., 2001 ; Walker et Davis, 2002) permettent également d'impliquer l'amygdale dans le phénomène d'extinction de la peur apprise. En effet, ces données

montrent que les récepteurs NMDA et AMPA du complexe basolatéral amygdalien sont respectivement impliqués dans l'acquisition et l'extinction de la peur apprise d'une part, et lors de l'expression de la peur apprise d'autre part (Walker et Davis, 2002). Par ailleurs, l'expression des IEG au sein d'un neurone peut traduire la mise en œuvre de cascades de seconds messagers (kinases...). Ainsi, les travaux de Lu et coll. (2001) indiquent que la cascade enzymatique ERK/MAP kinase est impliquée au niveau du BLA au cours de l'extinction de la peur apprise. Ces dernières suggestions sont particulièrement intéressantes étant donné que (i) les récepteurs NMDA amygdaliens sont impliqués au cours de l'extinction d'un conditionnement aversif (Falls et coll., 1992 ; Lee et coll., 1998), (ii) l'activation des récepteurs NMDA contribuent à l'activation de la voie de la MAPK (Xia et coll., 1996) et (iii) la voie des MAP kinase est impliquée lors du conditionnement aversif (Schafe et coll., 1999) et également au cours des mécanismes de PLT amygdaliens (Brambilla et coll., 1997 ; Huang et coll., 2000). Enfin, les données de Labar et Coll, (1998) obtenues par l'utilisation d'une technique d'imagerie cérébrale (IRMf) mettent en évidence une implication des noyaux amygdaliens chez l'homme à la fois pour l'acquisition d'un conditionnement aversif et également lors de son extinction.

Nos résultats confirment en partie l'hypothèse de l'implication de l'amygdale dans le phénomène d'extinction de la peur apprise puisque nous mettons en évidence une modification des immunoréactivités c-fos et zif268 au cours de cette tâche d'apprentissage. De façon plus précise, nous observons une augmentation significative de l'immunoréactivité (1) de c-fos à partir de la première (LA) et de la deuxième séance d'extinction (BLA) et (2) de zif268 à partir de la deuxième séance d'extinction de la peur apprise (LA) et au cours du TRP (BLA). Il semble donc que les immunoréactivités c-fos et zif268 au niveau de l'amygdale augmentent parallèlement à celles observées au niveau du CPFm, ce qui suggère une implication conjointe de ces deux structures dans la tâche d'extinction de la peur apprise. Par ailleurs, nos résultats indiquent que le complexe basolatéral amygdalien présente une augmentation des immunoréactivités c-fos et zif268 lors des phases tardives de l'extinction (à partir de la deuxième séance d'extinction), ce qui pourrait signifier que l'amygdale joue un rôle dans le maintien à long terme (consolidation) de l'extinction de la peur apprise. Ce rôle pourrait être en partie sous-tendu par une influence directe ou indirecte de l'amygdale sur le CPFm au cours de l'extinction. Cette dernière hypothèse est en partie confirmée par des données électrophysiologiques récentes (Garcia et coll., 1999) qui suggèrent l'existence d'une modulation amygdalienne, probablement indirecte, de l'activité neuronale préfrontale à la suite d'un conditionnement aversif. En effet, lorsque le SC est très prédictif de l'occurrence d'un choc électrique (à la suite du conditionnement), l'amygdale induit une dépression de l'activité

neuronale préfrontale. A partir de ces résultats, nous suggérons une implication de l'amygdale au cours de l'extinction de la peur apprise et de sa consolidation par une modulation de l'activité neuronale préfrontale.



Moine au bord de la mer, Caspar David Friedrich, 1809-1810,
Berlin Staatliche Museen Preussischer Kulturbesitz, Nationalgalerie.

VII / CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

Ce travail a eu pour objectifs majeurs la détermination de : (i) la plasticité synaptique préfrontale artificielle chez la souris éveillée et libre de ses mouvements, (ii) la plasticité synaptique préfrontale associée à l'apprentissage de l'extinction de la peur apprise, (iii) la modulation préfrontale de l'extinction, et (iv) la variation, relative à la tâche d'extinction de la peur apprise, de l'immunoréactivité de certains IEG dans le cortex préfrontal médian (CPFm).

Les résultats obtenus dans la première partie indiquent que la stimulation du noyau dorso-médian du thalamus (MD) induit un potentiel de champ dans le CPFm, caractérisé par un ensemble de complexes négatifs-positifs (composantes précoces et tardives). Ce potentiel évoqué varie en fonction de l'intensité de la stimulation et de la localisation dorso-ventrale de l'électrode de stimulation dans le MD. Les études relatives à la plasticité synaptique montrent que la stimulation à basse fréquence du MD induit soit une potentialisation soit une dépression à long terme (DLT) de la réponse évoquée préfrontale. Cette bidirectionnalité de la plasticité synaptique préfrontale ne s'observe pas dans le cas d'une stimulation tétranique du MD. La stimulation tétranique induit initialement une dépression qui se convertit en potentialisation à long terme (PLT) de l'efficacité des synapses glutamatergiques préfrontales. Enfin, nous notons que la voie thalamo-préfrontale présente une plasticité synaptique ponctuelle (mise en évidence par la technique du double choc). Cette plasticité est modifiable en fonction de l'induction préalable d'une PLT, mais elle reste inchangée lors de l'induction préalable d'une DLT. Dans leur ensemble, ces résultats nous ont permis de déterminer que, premièrement, que la composante précoce du potentiel de champ préfrontal (N1-P2) correspond à une enveloppe de potentiels d'action évoqués dans l'aire prélimbique du CPFm, ce qui nous a conduit à indexer la plasticité de l'excitabilité synaptique préfrontale, c'est-à-dire la probabilité de décharge des cellules cibles, à partir des changements de l'amplitude du complexe N1-P2. Deuxièmement, étant donné que la voie thalamo-préfrontale présente des modifications bidirectionnelles de plasticité synaptique (PLT et DLT), ces données ont, par conséquent, renforcé l'idée selon laquelle *cette voie peut également manifester une plasticité synaptique comportementale* (c'est-à-dire liée à l'apprentissage et à la mémoire). Enfin, les études sur la plasticité synaptique ponctuelle permettent de suggérer une induction en partie d'origine pré-synaptique de la PLT thalamo-préfrontale, alors que l'induction de la DLT thalamo-préfrontale serait plutôt d'origine post-synaptique.

Les résultats de la deuxième partie de cette thèse confirment l'idée sur l'induction comportementale de la plasticité synaptique préfrontale. En effet, l'apprentissage de l'extinction de la peur apprise provoque des modifications spécifiques d'efficacité synaptique préfrontale. Au début de la tâche, correspondant au moment où le degré de prédictibilité du danger est élevé, nous observons une baisse de l'efficacité synaptique préfrontale. Au fil des présentations du stimulus conditionnel (SC) seul, une faible tendance au rétablissement de l'excitabilité basale est notée. Cependant, le jour suivant, à la place d'un simple retour à l'excitabilité basale, nous observons une PLT comportementale des synapses préfrontales interrogées. *Cette variation d'excitabilité synaptique de type PLT peut coder le faible degré de prédictibilité du danger* compte du nombre important de SC présentés lors de la première séance d'extinction. En présentant le même nombre de SC lors de la seconde séance, nous constatons une stabilisation de la PLT comportementale. Les données de cette deuxième partie permettent aussi de constater que les seuils d'induction des changements d'efficacité synaptique préfrontale sont beaucoup plus sensibles au nombre de présentations des stimuli, pendant l'apprentissage (qu'il s'agisse du conditionnement ou de l'extinction), que les seuils de changements comportementaux (RECI). En effet, un faible nombre d'associations SC-SI peut entraîner l'acquisition de la RECI, alors qu'il faut un nombre plus important pour induire la dépression de l'efficacité synaptique préfrontale. Au cours de l'extinction, un grand nombre de présentations du SC provoque une rapide conversion de la plasticité synaptique préfrontale, alors que les changements de niveau de la RECI sont beaucoup plus lents. Toutefois, *cette dissociation n'exclut pas le développement d'une interaction entre le niveau de l'excitabilité synaptique préfrontale et le degré d'expression de la RECI.*

Les résultats de la troisième partie révèlent que l'induction et le maintien de la dépression de l'efficacité synaptique préfrontale au cours de l'apprentissage de l'extinction de la peur apprise (dépression induite naturellement ou artificiellement) provoquent une réactivation de la peur (retour de la RECI à des valeurs optimales). Ce retour, qui apparaît après une ou plusieurs séances d'extinction, reflète *le phénomène de persévération émotionnelle*. Au contraire, l'induction et le maintien d'une potentialisation de l'efficacité synaptique préfrontale au cours de l'extinction de la peur apprise (de façon naturelle ou artificiellement) préviennent le retour de la peur.

Globalement, les résultats des parties 2 et 3 semblent signifier (i) que la plasticité synaptique préfrontale observée au cours de l'extinction de la peur apprise code l'aspect cognitif de l'extinction, et (ii) que les synapses du CPFm encodent le phénomène d'extinction, par une augmentation à long

terme de leur efficacité dans le but de faciliter le maintien à long terme de l'extinction de la peur apprise (consolidation).

Enfin, les données de la quatrième partie montrent, premièrement, une diminution de la synthèse de certains gènes précoces dans le CPFm (c-fos et zif268) au cours du premier jour d'extinction, alors qu'une potentialisation de cette synthèse est observée le jour suivant. Cette potentialisation s'exprime également, une semaine après l'extinction totale de la peur apprise, à l'issue de la séance de ré-exposition au SC, ce maintien de la potentialisation de la synthèse du c-fos et du zif268 étant associé au maintien de l'extinction (consolidation). Deuxièmement, la même analyse effectuée au niveau amygdalien, au cours de l'extinction de la peur apprise, indique une augmentation graduelle de la synthèse de ces gènes dans le complexe basolatéral (noyau latéral et noyau basolatéral).

Globalement, ces données semblent indiquer l'existence d'une corrélation, au cours de l'apprentissage et du maintien de l'extinction de la peur apprise, entre la conversion de la dépression à la potentialisation de l'efficacité synaptique préfrontale et la conversion de la baisse à l'augmentation de l'expression préfrontale des gènes c-fos et zif268. Bien que l'étude amygdalienne ne constitue pas un objectif majeur de ce travail, elle permet de proposer des perspectives pour les travaux futurs (voir ci-dessous).

A/ Le CPFm et l'acquisition et le maintien de l'extinction de la peur apprise

L'hypothèse de l'implication du CPFm dans l'apprentissage de l'extinction de la peur apprise a été initialement proposée par Morgan et coll., (1993). Cependant, l'ensemble des travaux postérieurs à cette idée fournit des conclusions contradictoires (Morgan et LeDoux, 1995 ; Gewirtz et coll., 1997 ; Quirk et coll., 2000 ; Vouimba et coll., 2000). En effet, dans leurs études pionnières, Morgan et ses collaborateurs (Morgan et coll., 1993, Morgan et LeDoux, 1995) observent que les lésions du CPFm provoquent une résistance à l'extinction de la peur apprise. Etant donné que leurs rats lésés présentaient des difficultés à éteindre la réponse initialement apprise (la RECI), les auteurs vont qualifier ce phénomène de persévération émotionnelle. Des études ultérieures, menées dans d'autres laboratoires, aussi bien chez le rat (Gewirtz et coll., 1997) que chez la souris (Vouimba et coll., 2000), indiquent une absence totale de persévération émotionnelle chez les animaux porteurs de lésions du CPFm. Récemment, Quirk et coll.. (2000) ont suggéré que cette contradiction découle, en partie, des protocoles expérimentaux utilisés : les effets lésionnels

apparaîtraient plus nettement d'une séance à l'autre avec une procédure d'extinction massée. Plus précisément, ces auteurs montrent que les lésions du CPFm n'affectent pas l'apprentissage intra-séance de l'extinction : les animaux lésés, soumis à un protocole massé, présentent bien une diminution progressive de la RECI jusqu'à une extinction totale de la peur apprise. Cependant, ces mêmes lésions altèrent la rétention à long terme de l'extinction de la peur apprise (Quirck et coll., 2000), ce qui a permis à ces auteurs de suggérer un rôle du CPFm dans la consolidation de l'extinction plutôt que dans son acquisition initiale. Cette hypothèse est en accord avec nos données électrophysiologiques, puisque nous notons que la direction (polarité) de la plasticité synaptique préfrontale n'a pas d'impact sur l'apprentissage de l'extinction. En effet, nous observons que les animaux présentant une dépression de l'excitabilité préfrontale, au cours de l'extinction, ne se distinguent pas sur le plan comportemental (baisse similaire de la RECI) de ceux qui présentent, au contraire, une potentialisation de l'efficacité synaptique préfrontale ou un retour à l'excitabilité basale. Cependant, le maintien de la polarité de la plasticité synaptique préfrontale (dépression ou potentialisation) a un impact à long terme sur l'extinction (sa perte ou son maintien) puisque nous observons un effet modulateur de la plasticité synaptique préfrontale sur le devenir de l'extinction : l'absence de la conversion « dépression-potentialisation » de l'efficacité synaptique préfrontale est associée à un retour systématique de la RECI (absence de consolidation de l'extinction), alors que la conversion « dépression-potentialisation » (montrée aussi bien par les moyens électrophysiologiques qu'immunohistochimiques) est associée à un maintien des bénéfices de l'extinction (inhibition de la RECI : consolidation de l'extinction de la peur apprise). De plus, de nombreuses données (Sagar et coll., 1988 ; Anokhin et coll., 1991 ; Milanovic et coll., 1998 ; Mileusnic et coll., 1996 ; Swank et coll., 1996 ; Bontempi et coll., 1999 ; Hall et coll., 2001) ont mis en évidence que les modifications de la synthèse du gène *c-fos* étaient corrélées avec la consolidation mnésique, ce qui plaide en faveur d'un rôle du CPFm dans la consolidation de l'extinction de la peur apprise. Cette fonction serait initiée au cours de l'apprentissage (caractérisée par une conversion électrophysiologique progressive) et renforcée immédiatement après la tâche d'apprentissage.

B/ Modèle d'interaction préfronto-amygdalienne

L'amygdale, et plus spécifiquement son complexe basolatéral (comprenant le noyau latéral, le noyau basolatéral, et le noyau basomédian), a fait l'objet de nombreuses études sur l'acquisition, la consolidation et l'expression du conditionnement de la peur (Clugnet et LeDoux, 1990 ; Rogan et

LeDoux, 1995 ; McKernan et Shinnick-Gallagher, 1997 ; Rogan et coll., 1997). Cependant, cette structure a été relativement peu étudiée dans les tâches d'extinction de la peur apprise. Quelques données pharmacologiques indiquent que l'injection intra-amygdalienne d'antagonistes des récepteurs N-méthyl-D-aspartate (NMDA) (Falls et coll., 1992 ; Lee et coll., 1998) et non NMDA (Walker et Davis, 2002), au cours de l'extinction de la peur apprise, induit un déficit d'apprentissage de l'extinction de la peur apprise. Sur le plan fonctionnel, des données obtenues en imagerie (LaBar et coll., 1998), chez l'homme, indiquent une activation de l'amygdale, qui apparaît aussi bien pendant l'acquisition d'un conditionnement de la peur que pendant l'extinction de la peur apprise. Enfin, d'un point de vue moléculaire, des données récentes (Lu et coll., 2001) révèlent, chez le rat, une implication de la cascade enzymatique ERK-MAP Kinase au niveau du noyau basolatéral amygdalien au cours de l'extinction de la peur apprise. Nos données confirment l'hypothèse de l'implication de l'amygdale (et plus spécifiquement du complexe basolatéral) dans l'apprentissage de l'extinction de la peur apprise. Cette implication se manifeste (augmentation des immunoréactivités c-fos et zif268) lorsque le SC perd sa valeur prédictive (extinction complète de la RECI) et lors de la séance ultérieure de présentations du SC (une semaine après l'extinction complète de la peur apprise). De ces données se dégage principalement l'idée d'une implication de l'amygdale dans les phases tardives de l'extinction et au cours de son maintien à long terme (consolidation).

Etant donné que l'activation amygdalienne est conjointe avec celle du CPFm, nous suggérons *l'existence d'une interaction préfronto-amygdalienne au cours des phases tardives de l'extinction de la peur apprise*. Cette interaction préfronto-amygdalienne impliquerait les voies préfronto-amygdaliennes et amygdalo-préfrontales (Santini et coll., 2001).

Au début de l'extinction, l'activité préfrontale subirait une modulation amygdalienne qui se caractérise par une baisse de l'excitabilité neuronale préfrontale (Garcia et coll., 1999). Au cours de l'extinction, l'amygdale perdrait ce rôle modulateur, ce qui favoriserait un retour à l'excitabilité préfrontale basale nécessaire au développement de la PLT comportementale (Herry et coll., 1999). Une fois en place, la PLT comportementale n'aurait pas d'effet sur l'activité amygdalienne tant que les neurones amygdaliens sont encore sous leur *état activé* qui commande l'expression de la RECI. Ceci explique, en partie, pourquoi au cours de l'extinction de la peur apprise, la potentialisation naturelle (Herry et coll., 1999) ou artificielle (Herry et Garcia, 2002) n'influence pas le déroulement temporel de l'extinction (l'extinction de la peur apprise n'est pas accélérée dans ces conditions). Cependant, une fois l'extinction acquise sur le plan comportemental, ce qui se traduirait par un *état inactivé* de l'ensemble des populations neuronales du complexe basolatéral amygdalien (Repa et

coll., 2001), l'effet inhibiteur du CPFm sur les neurones de ce complexe (Rosenkranz et Grace, 2001, 2002) deviendrait effectif. Cet effet inhibiteur s'opérerait par un recrutement des interneurons GABAergiques du noyau basolatéral amygdalien (Rosenkranz et Grace, 2002). L'activation observée dans notre travail (ou celle rapportée chez l'homme par LaBar et coll., 1998) pourrait donc correspondre à celle des interneurons du noyau basolatéral, ces interneurons inhiberaient directement les efférences glutamatergiques de ce noyau. Enfin, selon le modèle que nous proposons ici, cette inhibition bloquerait la réactivation des circuits associés à la réactivation de la peur apprise, d'où une absence de RECI lors de la perception ultérieure du SC. Au contraire, en absence de cette influence préfrontale (cas du maintien de la dépression synaptique préfrontale), la perception du SC, une semaine après l'extinction totale de la peur apprise, activerait les circuits mnésiques amygdalien (complexe basolatéral) en rapport avec le conditionnement de la peur, d'où une commande de l'expression de la RECI.

La séquence inhibitrice amygdalo-préfrontale (Garcia et coll., 1999) *et préfronto-amygdalienne* (Rosenkranz et Grace, 2002) *pourrait constituer la clé du maintien ou de l'absence de maintien de l'extinction de la peur apprise* (Herry et Garcia, 2002). Les études ultérieures visent à examiner cette séquence ainsi que son rôle dans la consolidation de l'extinction de la peur apprise chez les rongeurs (rats et souris).

C/ Implications cliniques

Bien que les études menées chez l'animal, sur l'identification des mécanismes cérébraux de certaines formes de psychopathologie et leurs thérapies, soulèvent la question de leur validité chez l'être humain (Garcia, 2002), il apparaît toutefois que l'expérimentation animale nous permet de mieux approcher certains éléments clés de ces mécanismes complexes.

Dans le cadre de cette thèse, nous notons, premièrement, que l'une des formes sévères du conditionnement traumatique chez l'être humain est le syndrome de stress post-traumatique (Ettedgui et Bridges, 1985). Ce syndrome est considéré comme étant l'une des formes de psychopathologie faciles à développer chez l'animal (Tomb, 1994). En effet, de nombreux auteurs proposent comme *modèle animal du syndrome de stress post-traumatique* le conditionnement de la peur obtenu à partir l'appariement d'un stimulus (initialement neutre) avec l'application de choc électrique (Foa et coll., 1992 ; Servatius et coll., 1995 ; Pynoos et coll., 1996).

Deuxièmement, de récentes études utilisant la technique de tomographie par émission de positrons surimposée à des images de référence obtenues en imagerie par résonance magnétique ont

montré que la réexposition de patients, souffrant de ce syndrome, aux SC de leur traumatisme (par exemple des images) entraîne une réduction du flux sanguin dans le CPFm (Bremner et coll., 1999a,b). Partant du modèle de conditionnement de la peur, établi à partir de l'appariement « son-choc », nous constatons que la ré-exposition des souris au SC sonore provoque également une baisse de l'excitabilité synaptique dans la zone frontale correspondant au CPFm humain (Herry et coll., 1999 ; Herry et Garcia, 2002). Des travaux réalisés avec une autre approche électrophysiologique (activité unitaire) confirment ces données (Garcia et coll., 1999).

Troisièmement, la procédure d'extinction provoque une conversion de la dépression à la potentialisation de l'efficacité des synapses du CPFm chez la souris (Herry et coll., 1999). Une étude similaire réalisée deux ans plus tard, chez l'être humain, montre que l'extinction thérapeutique se traduit au niveau du CPFm par une conversion de la diminution en augmentation du flux sanguin (Fernandez et coll., 2001).

Ces points communs nous permettent de suggérer que le syndrome de stress post-traumatique, qui est connu pour être résistant aux traitements (Perconte et Griger, 1991 ; Tomb, 1994 ; Friedman, 1997 ; Tarrrier et coll., 1999), peut persévérer (retour des symptômes) en raison de la persistance de la plasticité synaptique « traumatique ». Cette plasticité prendrait place dans certains circuits neuronaux incluant le CPFm. *Le maintien à long terme des effets bénéfiques de la thérapie d'exposition pourrait nécessiter un changement de direction de cette plasticité.* Cette hypothèse, découlant de l'expérimentation animale, reste à démontrer chez l'être humain par des études longitudinales.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Acquas., E., Wilson., C., and Fibiger., HC., (1996). Conditioned and unconditioned stimuli increase frontal cortical and hippocampal acetylcholine release: effects of novelty, habituation, and fear. *Journal of Neuroscience*, 16, p. 3089-3096.

Akert., K., (1964). Comparative anatomy of frontal cortex and thalamofrontal connexions. In J.,M., Warren and K. Akert (Eds), *The frontal granular cortex and behavior*, p. 372-396. New York : Mc-Graw-Hill.

Alger., B.E., and Teyler., T.J., (1976). Long-term and short-term plasticity in the CA1, CA3, and dentate regions of the rat hippocampal slice. *Brain Research*, 110, p. 463-480.

Anokhin., K.V., Mileusnic., R., Shamakina., I.Y., and Rose., S.P., (1991). Effects of early experience on c-fos gene expression in the chick forebrain. *Brain Research*, 544, p. 101-107.

Anwyl., R., Mulkeen., D., et Rowan., MJ., (1989). The role of N-methyl-D-aspartate receptors in the generation of short-term potentiation in the rat hippocampus. *Brain Research*, 503, p. 148-151.

Artola., A., Brocher., S., and Singer., W., (1990). Different voltage-dependent thresholds for inducing long-term depression and long-term potentiation in slices of rat visual cortex. *Nature*, 347, p. 69-72.

Asztely., R., Hanse., E., et Gustafsson., B., (1990). The early decay of long-term potentiation in the hippocampal CA1 region in vitro is reduced by activators of protein kinase C. *Brain Research*, 521, p. 355-358.

Asztely., F., Xiao., M.-Y., et Gustafsson., B., (1996). Long-term potentiation and paired-pulse facilitation in the hippocampal CA1 region. *Neuroreport*, 7, p. 1609-1612.

Audinat., E., Conde., F., and Crepel., F., (1988). Cortico-cortical connections of the limbic cortex of the rat. *Experimental Brain Research*, 69, p. 439-443.

Baranyi., A., and Feher., O., (1981a). Long-term facilitation of excitatory synaptic transmission in single motor cortical neurones of the cat produced by repetitive pairing of synaptic potentials and action potentials following intracellular stimulation. *Neuroscience Letters*, 23, p. 303-308.

Baranyi., A., and Feher., O., (1981b). Selective facilitation of synapses in the neocortex by heterosynaptic activation. *Brain Research*. 212, p. 164-168.

Baranyi., A., and Feher., O., (1981c). Synaptic facilitation requires paired activation of convergent pathways in the neocortex. *Nature*, 290, p. 413-415.

Baranyi., A., and Feher., O., (1981d). Intracellular studies on cortical synaptic plasticity. Conditioning effect of antidromic activation on test-EPSPs. *Experimental Brain Research*, 41, p. 124-134.

Baranyi., A., Szente., M.B., and Woody., C.D., (1991). Properties of associative long-lasting potentiation induced by cellular conditioning in the motor cortex of conscious cats. *Neuroscience*, 42, p. 321-334.

Barbas., H., (1988). Anatomic organization of basoventral and mediodorsal visual recipient prefrontal regions in the rhesus monkey. *Journal of Comparative Neurology*, 276, p. 313-342.

Barbas., H., and Pandya., D.N., (1989). Architecture and intrinsic connections of the prefrontal cortex in the rhesus monkey. *Journal of Comparative Neurology*, 286, p. 353-375.

Barbas., H., Henion., T.H., and Dermon., CR., (1991). Diverse thalamic projections to the prefrontal cortex in the rhesus monkey. *Journal of Comparative Neurology*, 313, p. 65-94.

Bear., M.F., Cooper., L.N., and Ebner., F.F., (1987). A physiological basis for a theory of synapse modification. *Science*, 237, p. 42-48.

Bear., M.F., and Abraham., W.C., (1996). Long-term depression in hippocampus. *Annual Review of Neuroscience*, 19, p. 437-462.

Bechara., A., Tranel., D., Damasio., H., Adolphs., R., Rockland., C., and Damasio., A.R., (1995). Double dissociation of conditioning and declarative knowledge relative to the amygdala and hippocampus in humans. *Science*, 269, p. 1115-1118.

Bechara., A., Damasio., H., Damasio., A.R., and Lee., G.P., (1999). Different contributions of the human amygdala and ventromedial prefrontal cortex to decision-making. *Journal of Neuroscience*. 19, p. 5473-5481.

Beck., C.H., and Fibiger., H.C., (1995) Conditioned fear-induced changes in behavior and in the expression of the immediate early gene c-fos: with and without diazepam pretreatment. *Journal of Neuroscience*, 15, p. 709-720.

Beckstead., R.M., (1976). Convergent thalamic and mesencephalic projections to the anterior medial cortex in the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 166, p. 403-416.

Beckstead., R.M., (1979). An autoradiographic examination of corticocortical and subcortical projections of the mediodorsal-projection (prefrontal) cortex in the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 184, p. 43-62.

Berendse., H.W., Galis-de Graaf., Y., and Groenewegen., H.J., (1992). Topographical organization and relationship with ventral striatal compartments of prefrontal corticostriatal projections in the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 316, p. 314-347.

Berger., B., Trottier., S., Verney., C., Gaspar., P., and Alvarez., C., (1988). Regional and laminar distribution of the dopamine and serotonin innervation in the macaque cerebral cortex: a radioautographic study. *Journal of Comparative Neurology*, 273, p. 99-119.

Berger., B., Gaspar., P., Verney., C., (1991). Dopaminergic innervation of the cerebral cortex: unexpected differences between rodents and primates. *Trends in Neurosciences*, 14, p. 21-27.

Berreta., N., and Cherubini., E., (1998). A novel form of long-term depression in the CA1 area of the avian rat hippocampus independent of glutamate receptors activation. *European Journal of Neuroscience*, 10, p. 2957-2963.

Berry., M.S., Teyer., T.J., and Tazen., H., (1989). Induction of long-term potentiation in rat primary visual cortex: tetanus parameters. *Brain Research*, 481, p. 221-227.

Betcherev., V.M., (1913) *La psychologie objective*. Paris : Alcan.

Bliss., T.V., and Gardner-Medwin., A.R., (1973). Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the unanaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *Journal of Physiology*, 232, p. 357-374.

Bliss., T.V., and Lomo., T., (1973). Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *Journal of Physiology*, 232, p. 331-356.

Bliss., T.V., and Collingridge., G.L., (1993). A synaptic model of memory: Long-term potentiation in the hippocampus. *Nature*, 361, p. 31-39.

Blond., O., Crepel., F., and Otani., S., (2002). Long-term potentiation in rat prefrontal slices facilitated by phased application of dopamine. *European Journal of Pharmacology*, 438, p. 115-116.

Bontempi., B., Laurent-Demir., C., Destrade., C, and Jaffard., R., (1999). Time-dependent reorganization of brain circuitry underlying long-term memory storage. *Nature*, 400, p. 671-675.

Bouton., M.E., and Bolles., R.C., (1979). Contextual control of the extinction of conditioned fear. *Learning and Motivation*, 10, p. 445-466.

Bouton., M.E., and King., D.A., (1983). Contextual control of the extinction of conditioned fear: Test for associative value of the context. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, 9, p. 248-265.

Brambilla., R., Gnesutta., N., Minichiello., L., White., G., Roylance., A.J., Herron., C.E., Ramsey., M., Wolfer., D.P., Cestari., V., Rossi-Arnaud., C., Grant., S.G., Chapman., P.F., Lipp., H.P., Sturani., E., and Klein., R., (1997). A role for the Ras signalling pathway in synaptic transmission and long-term memory. *Nature*, 390, p. 281-286.

Bremner., J.d., Staib., L.H., Kaloupek., D., Southwick., S.M., Soufer., R. and Charney., D.S., (1999a). Neural correlates of exposure to traumatic pictures and sound in Vietnam combat veterans with and without posttraumatic stress disorder: a positron emission tomography study. *Biological Psychiatry*, 45, p. 806-816.

Bremner., J.D., Narayan., M., Staib., L.H., Southwick., S.M., McGlashan., T., and Charney., D.S., (1999b). Neural correlates of memory of childhood sexual abuse in women with and without posttraumatic stress disorder. *American Journal of Psychiatry*, 156, p. 1787-1795.

Brennan., J.F., Pescatore., C.A., and Hallisey., P., (1990). Ontogenic factors in short- and long-term recovery of discriminative behavior in rats after selective brain damage. *Acta Neurobiologiae Experimentalis*, 50, p. 141-149.

Brodmann., K., (1909). Vergleichende lokalisationslehre der grosshirnrinde in ihren prinzipien dargestellt au grund des zellenbaues. *Leipzig: Barth.*

Brooks., D.C., and Bouton., M.E., (1994). A retrieval cue for extinction attenuates responses recovery (renewal) caused by a return to type conditioning context. *Journal of Experimental Psychology. Animal Behavior Processes*. 20, p. 366-379.

Burette., F., Jay., T.M., and Laroche., S., (1993). The hippocampal-prefrontal cortex pathway in the rat: long-term potentiation and implication in associative learning. *Neuroscience Abstracts*, 19: 910.

Burette., F., Jay., T.M., Laroche., S., (1997). Reversal of LTP in the hippocampal afferent fiber system to the prefrontal cortex in vivo with low-frequency patterns of stimulation that do not produce LTD. *Journal of Neurophysiology*, 78, p. 1155-1160.

Burgess., A.W., Hartman., C.R., and Clements., P.T., (1995). Biology of memory and childhood trauma. *Journal of Psychosocial Nursery and Mental Health Service*, 33, p. 16-26.

Buzsaki., G., (1980). Long-term potentiation of the commissural path-CA1 pyramidal cell synapse in the hippocampus of the freely moving rat. *Neuroscience Letters*, 19, p. 293-296.

Buzsaki., G., Grastyan., E., Czopf., J., Kellenyi., L., and Prohaska., O., (1981). Changes in neuronal transmission in the rat hippocampus during behavior. *Brain Research*, 30, p. 235-247.

Campeau., S., Hayward., M.D., Hope., B.T., Rosen., J.B., Nestler., E.J., and Davis., M., (1991). Induction of the c-fos proto-oncogene in rat amygdala during unconditioned and conditioned fear. *Brain Research*, 565, p. 349-352.

Campeau., S., Falls., W.A., Cullinan., W.E., Helmreich., D.L., Davis., M., and Watson., S.J., (1997). Elicitation and reduction of fear: behavioural and neuroendocrine indices and brain induction of the immediate-early gene c-fos. *Neuroscience*, 78, p. 1087-1104.

Castro-Alamancos., M.A., Donoghue., J.P., and Connors., B.W., (1995). Different forms of synaptic plasticity in somatosensory and motor areas of the neocortex. *Journal of Neuroscience*, 15, p. 5324-5333.

Charlton., M.P., Smith., S.J., et Zucker., R.S., (1982). Role of presynaptic calcium ions and channels in synaptic facilitation and depression at the squid giant synapse. *Journal of Physiology*, 323, p. 173-193.

Chen., W.R., Lee., S., Kato., K., Spencer., D.D., Shepherd., G.M., and Williamson., A., (1996). Long-term modifications of synaptic efficacy in the human inferior and middle temporal cortex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93, p. 8011-8015.

Chen., C., and Tonegawa., S., (1997). Molecular genetic analysis of synaptic plasticity, activity-dependent neural development, learning, and memory in the mammalian brain. *Annual Review of Neuroscience*, 20, p. 157-184.

Chetkovitch., D.M., and Sweatt., J.D., (1993). NMDA receptor activation increases cyclic AMP in area CA1 of the hippocampus via calcium/calmodulin stimulation of adenylyl cyclase. *Journal of Neurochemistry*, 61, p. 1933-1942.

Christie., B.R., and Abraham., W.C., (1994). Differential regulation of paired-pulse plasticity following LTP in the dentate gyrus. *Neuroreport*, 5, p. 385-388.

Clugnet., M.C., LeDoux., J.E., (1990). Synaptic plasticity in fear conditioning circuits: induction of LTP in the lateral nucleus of the amygdala by stimulation of the medial geniculate body. *Journal of Neuroscience*, 10, p. 2818-2824.

Coan., E.J., Saywood., W., and Collingridge., G.L., (1987). MK-801 blocks NMDA receptor-mediated synaptic transmission and long-term potentiation in rat hippocampal slices. *Neuroscience Letters*, 80, p. 111-114.

Coffey., P.J., Feldon., J., Mitchell., S., Sinden., J., Gray., J.A., and Rawlins., J.N.P., (1989). Ibotenate-induced total septal lesions reduce resistance to extinction but spare the partial reinforcement extinction effect in rat. *Experimental Brain Research*, 77, p. 140-152.

Colbert., C.M., and Levy., W.B., (1992). Electrophysiological and pharmacological characterization of perforant path synapses in CA1: mediation by glutamate receptors. *Journal of Neurophysiology*, 68, p. 1-8.

Cole., A.J., Saffen., D.W., Baraban., J.M., and Worley., P.F., (1989). Rapid increase of an immediate early gene messenger RNA in hippocampal neurons by synaptic NMDA receptor activation. *Nature*, 340, p. 474-476.

Collingridge., G.L., Kehl., S.J., and McLennan., H., (1983). Excitatory amino acids in synaptic transmission in the Schaffer collateral-commissural pathway of the rat hippocampus. *Journal of Physiology*, 334, p. 33-46.

Collins., P., Roberts., A.C., Dias., R., Everitt., B.J., and Robbins., T.W., (1998). Perseveration and strategy in a novel spatial self-ordered sequencing task for nonhuman primates : effects of excitotoxic lesions and dopamine depletions of the prefrontal cortex. *Journal of Cognitive Neuroscience*, 10, p. 332-354.

Commins., S., Gigg., J., Anderson., M., and O'Mara., S.M., (1998). Interaction between paired-pulse facilitation and long term potentiation in the projection from hippocampal area CA1 to the subiculum. *Neuroreport*, 9, p. 4109-4113.

Conde., F., Audinat., E., Maire-Lepoivre., E., and Crepel., F., (1990). Afferent connections of the medial frontal cortex of the rat. A study using retrograde transport of fluorescent dyes. I. Thalamic afferents. *Brain Research Bulletin*, 24, p. 341-354.

Cooper., L.N., Liberman., F., and Oja., E., (1979). A theory for the acquisition and loss of neuron specificity in visual cortex. *Biological Cybernetics*, 33, p. 9-28.

Corcoran., K.A., and Maren., S., (2001). Hippocampal inactivation disrupts contextual retrieval of fear memory after extinction. *Journal of Neuroscience*, 21, p. 1720-1726.

Davis., H.P., and Squire., L.R., (1984). Protein synthesis and memory: a review. *Psychological Bulletin*, 96, p. 518-559.

Debanne., D., Guerineau., N.C., Gähwiler., B.H., and Thompson., S.M., (1996). Paired-pulse facilitation and depression at unitary synapses in rat hippocampus: quantal fluctuation affects subsequent release. *Journal of Physiology*, 491, p. 163-176.

Derrick., B.E., and Martinez., J.L., (1996). Associative, bidirectional modifications (LTP and LTD) at the hippocampal mossy fiber-CA3 synapse. *Nature*, 381, p. 429-434.

Desmedt., A., Garcia., R., and Jaffard., R., (1998). Differential modulation of changes in hippocampal-septal synaptic excitability by the amygdala as a function of either elemental or contextual fear conditioning in mice. *Journal of Neuroscience*, 18, p. 480-487.

Deville., G.J., and Spence., S.H., (1999). The relative efficacy and treatment distress of EMDR and a cognitive-behavior trauma treatment protocol in the amelioration of posttraumatic stress disorder. *Journal of Anxiety Disorders*, 13, p. 131-57.

Doyere., V., Burette., F., Negro., C.R., and Laroche., S., (1993). Long-term potentiation of hippocampal afferents and efferents to prefrontal cortex: implications for associative learning. *Neuropsychologia*, 31, p. 1031-1053.

Dudek., S.M., and Bear., M.F., (1992). Homosynaptic long-term depression in area CA1 of hippocampus and effects of N-methyl-D-aspartate receptor blockade. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 89, p. 4363-4367.

Duncan, G.E., Knapp, D.J., Johnson, K.B., and Breese, G.R., (1996). Functional classification of antidepressants based on antagonism of swim stress induced antagonism of Fos-like immunoreactivity. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 277, p. 1076-1089.

Earl., W.L., (1991). Perceived trauma: its etiology and treatment. *Adolescence*, 26, p. 97-104.

Eichenbaum., H., Clegg., R.A., and Feeley., A., (1983). Reexamination of functional subdivisions of the rodent prefrontal cortex. *Experimental Neurology*, 79, p. 434-451.

Estes., W.K., (1955). Statistical theory of spontaneous recovery and regression. *Psychological Review*, 62, p. 145-154.

Esteves., F., Parra., C., Dimberg., and Ohman., A., (1994). Nonconscious associative learning: Pavlovian conditioning of skin conductance responses to masked fear-relevant facial stimuli. *Psychophysiology*, 31, p. 375-385.

Ettegui., E. and Bridges., M., (1985). Posttraumatic stress disorder. *Psychiatric Clinical North America*, 8, p. 89-103.

Everitt., B.J., and Robbins., T.W., (1992). Amygdala-ventral striatum interactions and reward related processes. In J.P., Aggleton (Ed.), *The Amygdala*, Wiley-Liss: New York, p. 401-430.

Everitt., B.J., and Robbins., T.W., (1997). Central cholinergic systems and cognition. *Annual Review of Psychology*, 48, p. 649-684.

Falls., W.A., Miserendino., M.J.D., and Davis., M., (1992). Extinction of fear-potentiated startle: blockade infusion of an NMDA antagonist into the amygdala. *Journal of Neuroscience*, 12, p. 854-863.

Fanselow., M.S., and LeDoux., J.E., (1999). Why we think plasticity underlying Pavlovian fear conditioning occurs in the basolateral amygdala. *Neuron*, 23, p. 229-32.

Fazeli., M.S., Corbet., J., Dunn., M.J., Dolphin., A.C., and Bliss., T.V., (1993). Changes in protein synthesis accompanying long-term potentiation in the dentate gyrus in vivo. *Journal of Neuroscience*, 13, p. 1346-1353.

Fendt., M., (1998). Different regions of the periaqueductal grey are involved differently in the expression and conditioned inhibition of fear-potentiated startle. *European Journal of Neuroscience*, 10, p. 3876-3884.

Fernandez., M., Pissioti., A., Frans., O., Knorrning., L.V., Fischer., H., and Fredrikson., M., (2001). Brain function in patient with torture related post-traumatic stress disorder before and after fluoxetine treatment: a positron emission tomography provocation study. *Neuroscience Letters*. 297, p. 101-104.

Ferron., A., Thierry., A.M., Le Douarin., C., and Glowinski., J., (1984). Inhibitory influence of the mesocortical dopaminergic system on spontaneous activity or excitatory response induced from the thalamic mediodorsal nucleus in the rat medial prefrontal cortex. *Brain Research*, 302, p. 257-265.

Foa., E.B., Zinbarg., R., and Rothbaum., B.O., (1992). Uncontrollability and unpredictability in post-traumatic stress disorder: an animal model. *Psychological Bulletin*, 112, p. 218-238

Franklin., K.B.J., and Paxinos., G., (1996). The mouse brain in stereotaxic coordinates. *Academic Press*.

Frey., U., Krug., M., Reymann., K.G., and Matthies., H., (1988). Anisomycin, an inhibitor of protein synthesis, blocks late phases of LTP phenomena in the hippocampal CA1 region in vitro. *Brain Research*, 452, p. 57-65.

Friedman, M.J. (1997) Posttraumatic stress disorder. *Journal of Clinical Psychiatry*, 58 Suppl. 9, p. 33-36.

Fuster., J.M., (1989). The prefrontal cortex, anatomy, physiology and neuropsychology of the frontal lobes. New York : Raven Press.

Garcia., R., and Jaffard., R., (1992). The hippocampo-septal projection in mice: long-term potentiation in the lateral septum. *Neuroreport*, 3, p. 193-196.

Garcia., R., Vouimba., R.M., and Jaffard., R., (1993). Spatial discrimination learning induces LTP-like changes in the lateral septum of mice. *Neuroreport*, 5, p.329-332.

Garcia., R., and Jaffard., R., (1996). Changes in synaptic excitability in the lateral septum associated with contextual and auditory fear conditioning in mice. *European Journal of Neuroscience*, 8, p. 809-815.

Garcia, R., Vouimba, R.M., and Jaffard, R., (1997). Contextual conditioned fear blocks the induction but not the maintenance of lateral septal LTP in behaving mice. *Journal of Neurophysiology*, 78, p.76-81.

Garcia, R., Vouimba, R.M., Baudry, M., and Thompson, R.F., (1999). Changes in medial prefrontal cortex activity during the expression of conditioned fear are mediated by amygdala. *Nature*, 402, p. 294-296.

Garcia, R. (2002) Stress, synaptic plasticity and psychopathology. *Behavioral Brain Research* (revue sur invitation de l'Editeur-en-Chef, en cours d'évaluation).

Gaspar, P., Stepniewska, I., and Kaas, J.H., (1992). Topography and collateralization of the dopaminergic projections to motor and lateral prefrontal cortex in owl monkeys. *Journal of Comparative Neurology*, 325, p. 1-21.

Gelowitz, D.L., and Kokkinidis, L., (1999). Enhanced amygdala kindling after electrical stimulation of the ventral tegmental area: implications for fear and anxiety. *Journal of Neuroscience*, 19, RC41.

Gemmell, C., and O'Mara, S.M., (1999). Medial prefrontal cortex lesions cause deficits in a variable-goal location task but not in object exploration. *Behavioral Neuroscience*, 113, p. 465-474.

Gerfen, C.R., (1989). The neostriatal mosaic: striatal patch-matrix organization is related to cortical lamination. *Science*, 246, p. 385-388.

Gewirtz, J.C., Falls, W.A., and Davis, M., (1997). Normal conditioned inhibition and extinction of freezing and fear-potentiated startle following electrolytic lesions of medial prefrontal cortex in rats. *Behavioral Neuroscience*, 111, p. 712-726.

Gigg, J., Tan, A.M., and Finch, D.M., (1992). Glutamatergic excitatory responses of anterior cingulate neurons to stimulation of the mediodorsal thalamus and their regulation by GABA: an in vivo iontophoretic study. *Cerebral Cortex*, 2, p. 477-484.

Gigg., J., Tan., A.M., and Finch., D.M., (1994). Glutamatergic hippocampal formation projections to prefrontal cortex in the rat are regulated by GABAergic inhibition and show convergence with glutamatergic projections from the limbic thalamus. *Hippocampus*, 4, p. 189-198.

Gioanni., Y., Rougeot., C., Clarke., P.B.S., Lepoussé., C., Thierry., A.M., and Vidal., C. (1999). Nicotinic receptors in the rat prefrontal cortex: increase in glutamate release and facilitation of mediodorsal thalamo-cortical transmission. *European Journal of Neuroscience*, 11, p. 18-30.

Goelet., P., Castellucci., V.F., Schacher., S., and Kandel., E.R., (1986). The long and the short of long-term memory--a molecular framework. *Nature*, 322, p.419-422.

Goldman-Rakic., P.S., and Porrino., L.J., (1985). The primate mediodorsal (MD) nucleus and its projection to the frontal lobe. *Journal of Comparative Neurology*, 242, p. 535-560.

Goldstein., L.E., Rasmusson., A.M., Bunney., B.S., and Roth., R.H., (1996). Role of the amygdala in the coordination of behavioral, neuroendocrine and prefrontal cortical monoamine response to psychological stress in the rat. *Journal of Neuroscience*, 16, p. 4787-4798.

Gonzalez., G.A., and Montminy., M.R., (1989). Cyclic AMP stimulates somatostatin gene transcription by phosphorylation of CREB at serine 133. *Cell*, 59, p. 675-680.

Gonzalez., G.A., Yamamoto., K.K., Fischer., W.H., Karr., D., Menzel., P., Biggs., W.I., Vale., W.W., and Montminy., M.R., (1989). A cluster of phosphorylation sites on the cyclic AMP-regulated nuclear factor CREB predicted by its sequence. *Nature*, 337, p. 749-52.

Goosens., K.A., and Maren., S., (2001). Contextual and auditory fear conditioning are mediated by the lateral, basal, and central amygdaloid nuclei in rats. *Learning and Memory*, 8, p. 148-155.

Green., B.L., (1994). Psychosocial research in traumatic stress: an update. *Journal of Traumatic Stress*, 7, p. 341-362.

Greist., J.H., Jefferson., J.W., and Marks., I.M., (1986). Anxiety and its treatment: help is available. Washington, DC: *American Psychiatric Press*.

Grillon., C., and Ameli., R., (2001). Conditioned inhibition of fear-potentiated startle and skin conductance in humans. *Psychophysiology*, 38, p. 807-815.

Groenewegen., H.J., (1988). Organization of the afferent connections of the mediodorsal thalamic nucleus in the rat, related to the mediodorsal-prefrontal topography. *Neuroscience*, 24, p. 379-431.

Groenewegen., H.J., Berendse., H.W., Wolters., J.G., and Lohman., A.H., (1990). The anatomical relationship of the prefrontal cortex with the striatopallidal system, the thalamus and the amygdala: evidence for a parallel organization. *Progress in Brain Research*, 85, p. 95-116.

Groenewegen., H.J., and Berendse., H.W., (1994). The specificity of the 'nonspecific' midline and intralaminar thalamic nuclei. *Trends in Neurosciences*, 17, p. 52-57.

Groenewegen., H.J., Wright., C.I., and Uylings., H.B., (1997). The anatomical relationships of the prefrontal cortex with limbic structures and the basal ganglia. *Journal of Psychopharmacology*, 11, p. 99-106.

Grover., L.M., and Teyler., T.J., (1989). Two components of long-term potentiation induced by different patterns of afferent activation. *Nature*, 4, p. 477-479.

Guldin., W.O., Pritzel., M., and Markowitsch., H.J., (1981). Prefrontal cortex of the mouse defined as cortical projection area of the thalamic mediodorsal nucleus. *Brain Behavioral Evolution*, 19, p. 93-107.

Gurden., H., Tassin., J.P., and Jay., T.M., (1999). Integrity of the mesocortical dopaminergic system is necessary for complete expression of in vivo hippocampal-prefrontal cortex long-term potentiation. *Neuroscience*, 94, p. 1019-1027.

Gurden., H., Takita., M., and Jay., T.M., (2000). Essential role of D1 but not D2 receptors in the NMDA receptor-dependent long-term potentiation at hippocampal-prefrontal cortex synapses in vivo. *Journal of Neuroscience*, 20, RC106.

Gustafsson., B., Huang., Y.-Y., and Wigstrom., H., (1988). Phorbol ester induced synaptic potentiation differs from long-term potentiation in the guinea pig hippocampus in vitro. *Neuroscience Letters*, 85, p. 77-81.

Gyory., J., Atzori., M., and Cherubini., E., (1996). Postsynaptic induction of mossy fiber long-term depression in the developing rat hippocampus. *Neuroreport*, 7, p. 1660-1664.

Hall., J., Thomas., K.L., and Everitt., B.J., (2001). Fear memory retrieval induces CREB phosphorylation and Fos expression within the amygdala. *European Journal of Neuroscience*, 13, p. 1453-1458.

Hauser., M.D., (1999). Perseveration, inhibition and the prefrontal cortex: a new look. *Current Opinion in Neurobiology*, 9, p. 214-222.

Heldt., S., Sundin., V., Willott., J.F., and Falls., W.A., (2000). Posttraining lesions of the amygdala interfere with fear-potentiated startle to both visual and auditory conditioned stimuli in C57BL/6J mice. *Behavioral Neuroscience*, 114, p. 749-759.

Herdegen., T., Kummer., W., Fiallos., C.E., Leah., J., and Bravo. R., (1991). Expression of c-JUN, JUN B and JUN D proteins in rat nervous system following transection of vagus nerve and cervical sympathetic trunk. *Neuroscience*, 45, p. 413-422.

Herry., C., (1999) Extinction de la peur apprise : études électrophysiologiques et comportementales chez la souris C57 BL/6. *Mémoire de DEA de Neurosciences et Neuropharmacologie* (université de Bordeaux I).

Herry., C., Vouimba., R.M., and Garcia., R., (1999). Plasticity in the mediodorsal thalamo-prefrontal cortical transmission in behaving mice. *Journal of Neurophysiology*, 82, p. 2827-2832.

Herry., C., and Garcia., R., (2002). Prefrontal cortex long-term potentiation, but not long-term depression, is associated with the maintenance of extinction of learned fear in mice. *Journal of Neuroscience*, 22, p. 577-583.

Heynen., A.J., Abraham., W.C., and Bear., M.F., (1996). Bidirectional modification of CA1 synapses in the adult hippocampus in vivo. *Nature*, 381, p. 163-166.

Higashima., M., and Yamamoto., C., (1985). Two components of long-term potentiation in mossy fiber-induced excitation in hippocampus. *Experimental Neurology*, 90, p. 529-539.

Hirsch., J.C., and Crepel., F., (1990). Use-dependent changes in synaptic efficacy in rat prefrontal neurons in vitro. *Journal of Physiology*, 427, p. 31-49.

Hirsch., J.C., and Crepel., F., (1991). Blockade of NMDA receptors unmasks a LTD in synaptic efficacy in rat prefrontal neurons *in vitro*. *Experimental Brain Research*, 85, p. 621-624.

Hirsch., J.C., and Crepel., F., (1992). Postsynaptic calcium is necessary for the induction of LTP and LTD of monosynaptic EPSPs in prefrontal neurons: an in vitro study in the rat. *Synapse*, 10, p. 173-175.

Huang., Y.-Y., and Kandel., E., (1994). Recruitment of long-lasting and protein Kinase A-dependent long-term potentiation in the CA1 region of hippocampus requires repeated tetanization. *Learning and memory*, 1, 74-82.

Huang., Y.-Y., and Kandel., E.R., (1998). Postsynaptic induction and PKA-dependent expression of LTP in the lateral amygdala. *Neuron*, 21, p. 169-178.

Huang., Y.-Y., Martin., K.C., and Kandel. E.R., (2000). Both protein kinase A and mitogen-activated protein kinase are required in the amygdala for the macromolecular synthesis-dependent late phase of long-term potentiation. *Journal of Neuroscience*, 20, p. 6317-6325.

Humphreys., L.G., (1939). The effect of random alternation of reinforcement on the acquisition and extinction of conditioned eyelid reactions. *Journal of Experimental Psychology*. 25, p. 141-158.

Ilinsky., I.A., Jouandet., M.L., and Goldman-Rakic., P.S., (1985). Organization of the nigrothalamocortical system in the rhesus monkey. *Journal of Comparative Neurology*, 236, p. 315-330.

Inoue., T., Koyama., T., and Yamashita., T., (1993) Effect of conditioned fear stress on serotonin metabolism in the rat brain. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 44, p. 371-374.

Iriki., A., Pavlides., C., Keller., A., and Asanuma., H., (1989). Long-term potentiation in the motor cortex. *Science*, 245, p. 1385-1387.

Iriki., A., Pavlides., C., Keller., A., and Asanuma., H., (1991). Long-term potentiation of thalamic input to the motor cortex induced by coactivation of thalamocortical and corticocortical afferents. *Journal of Neurophysiology*, 65, p. 1435-1441.

Ishihara., K., Mitsuno., K., Ishikawa., M., and Sasa., M., (1997). Behavioral LTP during learning in rat hippocampal CA3. *Behavioral Brain Research*, 83, p. 235-238.

Ito., M., (1982). Experimental verification of Marr-Albus' plasticity assumption for the cerebellum. *Acta Biologica*. 33, p. 189-199.

Ito., M., (1989). Long-term depression. *Annual Review of Neuroscience*, 12, p. 85-102.

Izaki., Y., Hori., K., and Nomura., M., (2001). Elevation of prefrontal acetylcholine is related to the extinction of learned behavior in rats. *Neuroscience Letters*, 306, p. 33-36.

Jones., M.C., (1924). The elimination of children's fears. *Journal of Experimental Psychology*, 7 : 383-390.

Jaffard., R., Vouimba., R.M., Marighetto., A., and Garcia., R., (1996). Long-term potentiation and long-term depression in the lateral septum in spatial working and reference memory. *Journal of Physiology*, 90, p. 339-341.

Jay., T.M., Glowinski., J., and Thierry., A.M., (1989). Selectivity of the hippocampal projection to the prelimbic area of the prefrontal cortex in the rat. *Brain Research*, 505, p. 337-340.

Jay., T.M., Burette., F., and Laroche., S., (1995). NMDA receptor-dependent long-term potentiation in the hippocampal afferent fibre system to the prefrontal cortex in the rat. *European Journal of Neuroscience*, 7, p. 247-250.

Kandel., E.R., (1997). Genes, synapses, and long-term memory. *Journal of Cell Physiology*, 173, p. 124-125.

Kapp., B. S., Frysinger., R.C., Gallagher., M., and Haselton, J. (1979). Amygdala central nucleus lesions : effect on heat rate conditioning in the rabbit. *Physiology and Behavior*, 23, p. 1109-1117.

Katkin., E.S., Wiens., S., and Ohman., A., (2001). Nonconscious fear conditioning, visceral perception, and the development of gut feelings. *Psychological Science*, 12, p. 366-370.

Katz., B., and Miledi., R., (1968). The role of calcium in neuromuscular facilitation. *Journal of Physiology*, 195, p. 481-492.

Kawahara., H., Yoshida., M., Yokoo., H., Nishi., M., and Tanaka., M., (1993) Psychological stress increases serotonin release in the rat amygdala and prefrontal cortex assessed by in vivo microdialysis. *Neuroscience Letters*, 162, p. 81-84.

Killcross., S., Robbins., T.W., and Everitt., B.J., (1997). Different types of fear-conditioned behaviour mediated by separate nuclei within amygdala. *Nature*, 388, p. 377-380.

Kim., J.J., and Fanselow., M.S., (1992). Modality-specific retrograde amnesia of fear. *Science*, 256, p. 675-677.

Kirkwood., A., Dudek., S.M., Gold., J.T., Aizenman., C.D., and Bear., M.F., (1993). Common forms of synaptic plasticity in the hippocampus and neocortex in vitro. *Science*, 260, p.1518-1521.

Kirkwood., A., and Bear., MF., (1994). Homosynaptic long-term depression in the visual cortex. *Journal of Neuroscience*, 14, p. 3404-3412.

Kitagawa., H., Nishimura., Y., Yoshioka., K., Lin., M., and Yamamoto., T., (1997). Long-term potentiation and depression in layer III and V pyramidal neurons of the cat sensorimotor cortex *in vitro*. *Brain Research*, 751, p. 339-343.

Kolb, B., Nonneman, A.J., Singh, R.K. (1974) Double dissociation of spatial impairments and perseveration following selective prefrontal lesions in rats. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 87, p. 772-780.

Komatsu., Y., Fujii., K., Maeda., J., Sakaguchi., H., and Tomaya., K., (1988). Long-term potentiation of synaptic transmission in kitten visual cortex. *Journal of Neurophysiology*, 59, p. 124-141.

Konorski., J., (1948). Conditioned reflexes and neuronal organization. London: Cambridge UP.

Krettek., J.E. and Price., J.L., (1977). The cortical projections of the mediodorsal nucleus and adjacent thalamic nuclei in the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 171, p. 157-192.

Kuroda., M., Murakami., K., Oda., S., Shinkai., M., and Kishi., K., (1993). Direct synaptic connections between thalamocortical axons terminals from the mediodorsal thalamic nucleus (MD) and corticothalamic neurons to MD in the prefrontal cortex. *Brain Research*, 612, p. 339-344.

Kuroda., M., Yokofujita., J., and Murakami., K., (1998). An ultrastructural study of the neural circuit between the prefrontal cortex and the mediodorsal nucleus of the thalamus. *Progress in Neurobiology*, 54, p. 417-458.

LaBar., K.S., Gatenby., J.C., Gore., J.C., LeDoux., J.E., and Phelps., E.A., (1998). Human amygdala activation during conditioned fear acquisition and extinction: a mixed-trial fMRI study. *Neuron*, 20, p. 937-945.

Lang, A.J., and Craske, M.G., (2000). Manipulations of exposure-based therapy to reduce return of fear: a replication. *Behavioral Research*, 38, p. 1-12.

Laroche., S., Jay., T.M., and Thierry., A.M., (1990). Long-term potentiation in the prefrontal cortex following stimulation of the hippocampal CA1/subicular region. *Neuroscience Letters*, 114, p. 184-190.

Laroche., S., (1994). Long term potentiation of the synaptic efficacy: mechanisms, functional properties and role in learning and memory. *Comptes rendus de la Société de Biologie*, 188, p. 415-458.

Law-Tho., D., Desce., J.M., and Crepel., F., (1995). Dopamine favours the emergence of long-term depression versus long-term potentiation in slices of rat prefrontal cortex. *Neuroscience Letters*, 188, p. 125-128.

LeDoux., J.E., (2000). Emotion circuits in the brain. *Annual Review of Neuroscience*, 23, p. 155-184.

Lee., H., and Kim., J.J., (1998). Amygdalar NMDA receptors are critical for new fear learning in previously fear-conditioned rats. *Journal of Neuroscience*, 18(20), p. 8444-8454.

Lee., H.J., Choi., J.S., Brown., T.H., and Kim., J.J., (2001). Amygdalar NMDA receptors are critical for the expression of multiple conditioned fear responses. *Journal of Neuroscience*, 21, p. 4116-4124.

Leonard., C.M., (1969). The prefrontal cortex of the rat. I. Cortical projection of the mediodorsal nucleus. II. Efferent connections. *Brain research*, 12, p. 321-343.

Lisman., J., (1989). A mechanism for the Hebb and the anti-Hebb processes underlying learning and memory. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 86, p. 9574-9578.

Lisman., J., (1994). The CaM kinase II hypothesis for the storage of synaptic memory. *Trends in Neurosciences*, 17, p. 406-12. Review.

Lisman., J., Schulman., H., and Cline., H., (2002). The molecular basis of CaMKII function in synaptic and behavioural memory. *Nature Reviews : Neuroscience*, 3, p.175-190.

Lossner., B., Schweigert., C., Krug., M., and Matthies., H.K., (1990). Posttetanic long-term potentiation in the dentate gyrus of freely moving rats is accompanied by an increase in protein synthesis. *Biomedica Biochimica Acta*, 49, p. 385-392.

Lu., K.T., Walker., D.L., and Davis., M., (2001). Mitogen-activated protein kinase cascade in the basolateral nucleus of amygdala is involved in extinction of fear-potentiated startle. *Journal of Neuroscience*, 21, RC162.

Lynch., G., and Baudry., M., (1984). The biochemistry of memory: a new specific hypothesis. *Science*, 224, p. 1057-1064.

Lynch., M.A., Voss, K.L., Rodriguez, J. and Bliss, T.V.P., (1994). Increase in synaptic vesicle proteins accompanies long-term potentiation in the dentate gyrus. *Neuroscience*, 60, 1-5.

Mack., K.J., and Mack., P.A., (1992). Induction of transcription factors in somatosensory cortex after tactile stimulation. *Molecular Brain Research*, 12, p. 141-147.

Macleod., A.D., (1994). The reactivation of post-traumatic stress disorder in later life. *Australian and New Zealand Journal of Psychiatry*, 28, p. 625-634.

Malenka, R.C., (1994). Synaptic plasticity in the hippocampus: LTP and LTD. *Cell*, 78, p. 535-538.

Manabe, T., Wyllie, DJA., Perkel, DJ., and Nicoll, RA., (1993). Modulation of synaptic transmission and long-term potentiation: effects on paired pulse facilitation and EPSC variance in the CA1 region of the hippocampus. *Journal of Neurophysiology*. 70, p. 1451-1459.

Mantz, J. Milla, C., Glowinsky, J., and Thierry, A.M., (1988). Differential effects of ascending neurons containing dopamine and noradrenaline in the control of spontaneous activity and of evoked responses in the rat prefrontal cortex. *Neuroscience*, 27, p. 517-526.

March, J.S., (1990). Sleep disturbance in PTSD. *American Journal of Psychiatry*, 147, p. 1697-1698.

Maren, S., (2001). Neurobiology of Pavlovian fear conditioning. *Annual Review of Neuroscience*, 24, p. 897-931.

Markowitsch, H.J., Kessler, J., Van Der Ven, C., Weber-Luxemburger, G., Albers, M. and Heiss, W.D., (1998). Psychic trauma causing grossly reduced brain metabolism and cognitive deterioration. *Neuropsychology*, 36, p. 77-82.

Martin, S.J., Grimwood, P.D., and Morris, R.G., (2000). Synaptic plasticity and memory: an evaluation of the hypothesis. *Annual Review of Neuroscience*, 23: 649-711.

Martinez, J.L., Jr., and Derrick, BE., (1996). Long-term potentiation and learning. *Annual Review of Psychology*, 47, p. 173-203.

McDonald, A.J., (1987). Organization of amygdaloid projections to the mediodorsal thalamus and prefrontal cortex: a fluorescence retrograde transport study in the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 262, p. 46-58.

McDonald, A.J., (1991). Organization of amygdaloid projections to the prefrontal cortex and associated striatum in the rat. *Neuroscience*, 44, p. 1-14.

McDonald., A.J., Mascagni., F., and Guo., L., (1996). Projections of the medial and lateral prefrontal cortices to the amygdala: a Phaseolus vulgaris leucoagglutinin study in the rat. *Neuroscience*, 71, p. 55-75.

McKernan., M.G., and Shinnick-Gallagher., P., (1997). Fear conditioning induces a lasting potentiation of synaptic currents in vitro. *Nature*, 390, p. 607-611.

McNaughton., B.L., Douglas., R.M., and Goddard., G.V., (1978). Synaptic enhancement in fascia dentata: cooperativity among coactive afferents. *Brain Research*, 157, p. 277-293.

McNaughton., BL., (1982). Long-term synaptic enhancement and short-term potentiation in rat fascia dentata act through different mechanisms. *Journal of Physiology*, 324, p. 249-262.

Milanovic., S., Radulovic., J., Laban., O., Stiedl., O., Henn., F., and Spiess., J., (1998). Production of the Fos protein after contextual fear conditioning of C57BL/6N mice. *Brain Research*, 784, p. 37-47.

Mileusnic., R., Anokhin., K., and Rose., S.P., (1996). Antisense oligodeoxynucleotides to c-fos are amnesic for passive avoidance in the chick. *Neuroreport*, 7, p. 1269-1272.

Miller., N.E., (1948). Studies of fear as an acquirable drive : I. Fear as motivation and fear-reduction as reinforcement in learning of new responses. *Journal of Experimental Psychology*, 38, p. 89-101.

Miller., E.K., (2000). The prefrontal cortex and cognitive control. *Nature Reviews Neuroscience*, 1, p. 59-65.

Milner., B., (1963). Effects of different brain lesions on card sorting. *Archives of Neurology*, 9, p. 90-100.

Milner., B., Squire., L.R., and Kandel., E.R., (1998). Cognitive neuroscience and the study of memory. *Neuron*, 20, p. 445-68.

- Minciacchi, D., and Granato, A.,** (1989). Development of the thalamocortical system: transient-crossed projections to the frontal cortex in neonatal rats. *Journal of Comparative Neurology*, 281, p. 1-12.
- Mitsuno, K., Sasa, M., Ishihara, K., Ishikawa, M., and Kikuchi, H.,** (1994). LTP of mossy fiber-stimulated potentials in CA3 during learning in rats. *Physiological Behavior*, 55, p. 633-638.
- Moradi, A.R., Doost, H.T., Taghavi, M.R., Yule, W., and Dalgleish, T.,** (1999). Everyday memory deficits in children and adolescents with PTSD: performance on the Rivermead Behavioural memory test. *Journal of Childhood Psychological Psychiatry*, 40, p. 357-361.
- Morgan, J.L., and Curran, T.,** (1991). Stimulus-transcription coupling in the nervous system: involvement of the inducible proto-oncogenes fos and jun. *Annual Review of Neuroscience*, 14, p. 421-451
- Morgan, M.A., Romanski, L.M., and LeDoux, J.E.,** (1993). Extinction of emotional learning: contribution of medial prefrontal cortex. *Neuroscience Letters*, 163, p. 109-113.
- Morgan, M.A., and LeDoux, J.E.,** (1995). Differential contribution of dorsal and ventral medial prefrontal cortex to acquisition and extinction of conditioned fear in rats. *Behavioral Neuroscience*, 109, p. 681-688.
- Morgan, A., and LeDoux, J.E.,** (1999). Contribution of ventrolateral prefrontal cortex to the acquisition and extinction of conditioned fear in rats. *Neurobiology Of Learning And Memory*, 72, p. 244-51.
- Mulkey, R.M., and Malenka, R.C.,** (1992). Mechanisms underlying induction of homosynaptic long-term depression in area CA1 of the hippocampus. *Neuron*, 9, p. 967-975.
- Muller, D., and Lynch, G.** (1989). Evidence that changes in presynaptic calcium currents are not responsible for long-term potentiation in hippocampus. *Brain Research*, 479, p. 290-299.

Muller., J., Corodimas., K.P., Fridel., Z., and LeDoux., J.E., (1997) Functional inactivation of the lateral and basal nuclei of the amygdala by muscimol infusion prevents fear conditioning to an explicit conditioned stimulus and to contextual stimuli. *Behavioral Neuroscience*, 111, p. 683-691.

Muran., E.M., and Motta., R.W., (1993). Cognitive distortions and irrational beliefs in post-traumatic stress, anxiety, and depressive disorders. *Journal of Clinical Psychology*, 49, p. 166-716.

Nayak., A., Zastrow., D.J., Lickteig., R., Zahniser., N.R., and Browning. M.D., (1998). Maintenance of late-phase LTP is accompanied by PKA-dependent increase in AMPA receptor synthesis. *Nature*, 394, p. 680-683.

Neumann., D.L., Lipp., O.T., and Siddle., A.D.T., (1997). Conditioned inhibition of autonomic Pavlovian conditioning in humans. *Biological Psychology*, 46, p. 223-233.

Otani., S., and Abraham., WC., (1989). Inhibition of protein synthesis in the dentate gyrus, but not the entorhinal cortex, blocks maintenance of long-term potentiation in rats. *Neuroscience Letters*, 106, p. 175-180.

Otani., S., Blond., O., Desce., JM., and Crepel F., (1998). Dopamine facilitates long-term depression of glutamatergic transmission in rat prefrontal cortex. *Neuroscience*, 85, p. 669-676.

Otani., S., Auclair., N., Desce., J.M., Roisin., M.P., Crepel., F., (1999). Dopamine receptors and groups I and II mGluRs cooperate for long-term depression induction in rat prefrontal cortex through converging postsynaptic activation of MAP kinases. *Journal of Neuroscience*, 19, p. 9788-9802.

Otani, S., (2001). Cooperativity between glutamate and dopamine receptors for plasticity induction in rat prelimbic neurons. *Proceedings of the International Australian Winter Conference on Brain Research*, 19, p. 39.

Pascoe, J.P., and Kapp, B.S., (1985). Electrophysiological characteristics of amygdaloid central nucleus neurons during Pavlovian fear conditioning in the rabbit. *Behavioral Brain Research*, 16, p. 117-133.

Passani, M.B., Cangioni, I., Baldi, E., Bucherelli, C., Mannaioni, P.F., and Blandina, P., (2001). Histamine H3 receptor-mediated impairment of contextual fear conditioning and in-vivo inhibition of cholinergic transmission in the rat basolateral amygdala. *European Journal of Neuroscience*, 14, p. 1522-1532.

Pavlov, I.P., (1927). *Conditioned reflexes*. Oxford: Oxford University Press .

Perconte, S.T., and Griger, M.L., (1991). Comparison of successful, unsuccessful, and relapsed Vietnam veterans treated for posttraumatic stress disorder. *Journal of Nervous Mental Disease*, 179, p. 558-562.

Pezzone, M.A., Lee, W.S., Hoffman, G.E., and Rabin, B.S., (1992). Induction of c-Fos immunoreactivity in the rat forebrain by conditioned and unconditioned aversive stimuli. *Brain Research*, 597, p. 41-50.

Pezzone, M.A., Lee, W.S., Hoffman, G.E., Pezzone, K.M., and Rabin, B.S., (1993). Activation of brainstem catecholaminergic neurons by conditioned and unconditioned aversive stimuli as revealed by c-Fos immunoreactivity. *Brain Research*, 608, p. 310-318.

Phillips, R.G., and LeDoux, J.E., (1992). Differential contribution of amygdala and hippocampus to cued and contextual fear conditioning. *Behavioral Neuroscience*, 106, p. 274-285.

Pirot., S., Jay., T.M., Glowinski., J., and Thierry., A.M., (1994). Anatomical and electrophysiological evidence for an excitatory amino acid pathway from the thalamic mediodorsal nucleus to the prefrontal cortex in the rat. *European Journal of Neuroscience*, p. 1225-1234.

Pynoos., R.S., Ritzmann., R.F., Steinberg., A.M., Goenjian., A., and Prisecaru., I., (1996). A behavioral animal model of posttraumatic stress disorder featuring repeated exposure to situational reminders. *Biological Psychiatry*, 39, p. 129-134.

Quirk., G.J., Armony., J.L., and LeDoux., J.E., (1997). Fear conditioning enhances different temporal components of tone-evoked spike trains in auditory cortex and lateral amygdala. *Neuron*, 19, p. 613-624.

Quirk., G.J., Russo., G.K., Barron., J.L., and Lebron., K., (2000). The role of ventromedial prefrontal cortex in the recovery of extinguished fear. *Journal of Neuroscience*, 20, p. 6225-31.

Radulovic., J., Kammermeier., J., and Spiess., J., (1998). Relationship between fos production and classical fear conditioning: effects of novelty, latent inhibition, and unconditioned stimulus preexposure. *Journal of Neuroscience*, 18, p. 7452-7461.

Ray., J.P., and Price., J.L., (1992). The organization of the thalamocortical connections of the mediodorsal thalamic nucleus in the rat, related to the ventral forebrain-prefrontal cortex topography. *Journal of Comparative Neurology*, 323, p. 167-197.

Reep., R.L., Corwin., J.V., King., V., (1996). Neuronal connections of orbital cortex in rats: topography of cortical and thalamic afferents. *Experimental Brain Research*, 111, p. 215-232.

Repa, J.C., Muller, J., Apergis, J., Desrochers, T.M., Zhou, Y., LeDoux, J.E. (2001). Two different lateral amygdala cell populations contribute to the initiation and storage of memory. *Nature Neuroscience*, 4, p. 724-731.

Rescorla., R.A., and LoLordo., V.M., (1965). Inhibition of avoidance behavior. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 59, p. 406-412.

Rescorla., R.A., (1969) Pavlovian conditioned inhibition. *Psychological Bulletin*, 72, p. 77-94.

Rescorla., R.A. and Heth., C.D., (1975). Reinstatement of fear to an extinguished conditioned stimulus. *Journal of Experimental Psychology (Animal Behavior)*, 1, p. 88-96.

Rescorla., R.A., (1979). Conditioned inhibition and excitation. Hillsdale, NJ: Erlbaum.

Reymann., K.G., Malisch., R., Schulzeck., K., Brodemann., R., Ott., T., and Matthies, H. (1985). The duration of long-term potentiation in the CA1 region of the hippocampal slice preparation. *Brain Research Bullutin*, 15, p. 249-255.

Rodrigues., S.M., Schafe., G.E., and LeDoux., J.E., (2001). Intra-amygdala blockade of the NR2B subunit of the NMDA receptor disrupts the acquisition but not the expression of fear conditioning. *Journal of Neuroscience*, 21, p. 6889-6896.

Roman., F., Staubli., U., and Lynch., G., (1987). Evidence for synaptic potentiation in a cortical network during learning. *Brain Research*, 418, p. 221-226.

Roman., F.S., Chaillan., F.A., Soumireu-Mourat., B., (1993). Long-term potentiation in rat piriform cortex following discrimination learning. *Brain Research*, 601, p. 265-272.

Rogan., M.T., and LeDoux., J.E., (1995). LTP is accompanied by commensurate enhancement of auditory-evoked responses in a fear conditioning circuit. *Neuron*, 15, p. 127-136.

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

Rose., J.E., and Woolsey., C.N., (1948). The orbitofrontal cortex and its connections with the mediodorsal nucleus in rabbit, sheep and cat. *Research publication association for research in nervous and mental disease*. 27, p. 210-232.

Rosen., J.B., Fanselow., M.S., Young., S.L., Sitcoske., M., and Maren., S., (1998). Immediate-early gene expression in the amygdala following footshock stress and contextual fear conditioning. *Brain Research*, 796, p. 132-142.

Rosenkranz., J.A., and Grace., A.A., (2001). Dopamine attenuates prefrontal cortical suppression of sensory inputs to the basolateral amygdala of rats. *Journal of Neuroscience*, 21, p. 4090-4103.

Rosenkranz., J.A., and Grace., A.A., (2002). Cellular mechanisms of infralimbic and prelimbic prefrontal cortical inhibition and dopaminergic modulation of basolateral amygdala neurons in vivo. *Journal of Neuroscience*, 22, p.324-337.

Rowe., M.K., and Craske., M.G., (1998). Effects of an expanding-spaced vs massed exposure schedule on fear reduction and return of fear. *Behaviour Research and Therapy*, 36, p. 701-717.

Ruthrich., H.L., Wetzel., W., and Matthies., H., (1982). Acquisition and retention in different learning tasks in old rats. *Behavioral Neural Biology*, 35, p. 139-146.

Sagar., S.M., Sharp., F.R., and Curran. T., (1988). Expression of c-fos protein in brain: metabolic mapping at the cellular level. *Science*, 240, p. 1328-1331.

Santini., E., Muller., R.U., and Quirk., G.J., (2001). Consolidation of extinction learning involves transfer from NMDA-independent to NMDA-dependent memory. *Journal of Neuroscience*, 21, p. 9009-9017.

Schafe., G.E., Nadel., N.V., Sullivan., G.M., Harris., A., and LeDoux., J.E., (1999). Memory consolidation for contextual and auditory fear conditioning is dependent on protein synthesis, PKA, and MAP kinase. *Learning and Memory*, 6, p. 97-110.

Schafe., G.E., Atkins., C.M., Swank., M.W., Bauer., E.P., Sweatt., J.D., and LeDoux., J.E., (2000). Activation of ERK/MAP kinase in the amygdala is required for memory consolidation of pavlovian fear conditioning. *Journal of Neuroscience*, 20, p. 8177-8187.

Schafe., G.E., Nader., K., Blair., H.T., and LeDoux., J.E., (2001). Memory consolidation of Pavlovian fear conditioning: a cellular and molecular perspective. *Trends in Neurosciences*, 24, p. 540-546.

Schmidt., R.A., and Bjork., R.A., (1992). New conceptualisation of practice: common principles in three paradigms suggest new concept for training. *Psychological Science*, 3: 207-217.

Schulz., P.E., Cook., E.P., and Johnston., D., (1994). Changes in paired-pulse facilitation suggest presynaptic involvement in long-term potentiation. *The Journal of Neuroscience*, 14, p. 5325-5337.

Schulz., P.E., (1997). Long term potentiation involves increases in the probability of neurotransmitter release. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94, p. 5888-5893.

Schwartzkroin., P.A., and Wester., K., (1975). Long-lasting facilitation of a synaptic potential following tetanization in the in vitro hippocampal slice. *Brain Research*, 89, p. 107-119.

Selden., N.R., Everitt., B.J., Jarrard., L.E., and Robbins., T.W., (1991). Complementary roles for the amygdala and hippocampus in aversive conditioning to explicit and contextual cues. *Neuroscience*, 42, p. 335-350.

Self., D.W., and Nestler., E.J., (1995). Molecular mechanisms of drug reinforcement and addiction. *Annual Review of Neuroscience*, 18, p. 463-495.

Servatius., R.J., Ottenweller., J.E., and Natelson., B.H., (1995). Delayed startle sensitization distinguishes rats exposed to one or three stress sessions: further evidence toward an animal model of PTSD. *Biological Psychiatry*, 38, p. 539-546.

Sesack., S.R., Deutch., A.Y., Roth., R.H., and 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. *Journal of Comparative Neurology*, 290, p. 213-242.

Sheffield., V.F., (1949). Extinction as a function of partial reinforcement and distribution of practice. *Journal of Experimental Psychology*, 38, p. 511-526.

Shinonaga., Y., Takada., M., and Mizuno., N., (1994). Topographic organization of collateral projections from the basolateral amygdaloid nucleus to both the prefrontal cortex and nucleus accumbens in the rat. *Neuroscience*, 58, p. 389-97.

Skelton., R.W., Scarth., A.S., Wilkie., D.M., Miller., J.J., and Phillips., A.G., (1987). Long-term increases in dentate granule cell responsivity accompany operant conditioning. *Journal of Neuroscience*, 7, p. 3081-3087.

Smith., M.A., Banerjee., S., Gold., P.W., and Glowa., J., (1992). Induction of c-fos mRNA in rat brain by conditioned and unconditioned stressors. *Brain Research*, 578, p. 135-141.

Sparks., P.D., and LeDoux., J.E., (1995). Septal lesions potentiate freezing behavior to contextual but not to phasic conditioned stimuli in rats. *Behavioral Neuroscience*, 109, p. 184-188.

Staats., C.K., and Staats., A.W., (1957). Meaning established by classical conditioning. *Journal of Experimental Psychology*, 54, p. 74-80.

Stark., C., Lee., J., Robb., E., and Kidd., B., (1994). Persistent post-traumatic stress disorder. *British Medical Journal*, 309, p. 1439-1440.

Strassman., A.M., and Vos., B.P., (1993). Somatotopic and laminar organization of fos-like immunoreactivity in the medullary and upper cervical dorsal horn induced by noxious facial stimulation in the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 331, p. 495-516.

Swank., M.W., Ellis., A.E., and Cochran., B.N., (1996). c-Fos antisense blocks acquisition and extinction of conditioned taste aversion in mice. *Neuroreport*, 7, p. 1866-1870.

Swanson., L.W., (1981). A direct projection from Ammon's horn to prefrontal cortex in the rat. *Brain Research*, 217, p. 150-154.

Takagishi., M., and Chiba., T., (1991). Efferent projections of the infralimbic (area 25) region of the medial prefrontal cortex in the rat: an anterograde tracer PHA-L study. *Brain Research*, 566, p. 26-39.

Takita., M., Izaki., Y., Jay., T.M., Kaneko., H., and Suzuki., S.S., (1999). Induction of stable long-term depression in vivo in the hippocampal-prefrontal cortex pathway. *European Journal of Neuroscience*, 11, p. 4145-4148.

Tanemichi., C., Tetsuro., K., and Katsuma., N., (2001). Efferent projections of infralimbic and prelimbic areas of the medial prefrontal cortex in the Japanese monkey, *Macaca fuscata*. *Brain Research*, 888, p. 83-101.

Tarrier., N., Sommerfield., C., Pilgrim., H., and Humphreys., L., (1999). Cognitive therapy or imaginal exposure in the treatment of post-traumatic stress disorder. Twelve-month follow-up. *Brain Journal of Psychiatry*. 175, p. 571-575.

Teyler., T.J., and DiScenna., P., (1984). Long-term potentiation as a candidate mnemonic device. *Brain Research Review*, 7, p. 17-28.

Teyler., T.J., Aroniadou., V., Berry., R.L., Borroni., A., DiScenna., P., Grover., L., and Lambert., N., (1990). LTP in neocortex. *Seminar in Neuroscience*, 2, p. 365-380.

Thierry., A.M., Blanc., G., Sobel., A., Stinus., L., and Glowinski., J., (1973). Dopaminergic terminals in the rat cortex. *Science*, 182, p. 499-501.

Thomas., E., Yadin., E., and Strickland., C.E., (1991). Septal unit activity during classical conditioning: a regional comparison. *Brain Research*, 547. P. 303-308.

Thomas., K.L., Laroche., S., Errington., M.L., Bliss., T.V., and Hunt., S.P., (1994). Spatial and temporal changes in signal transduction pathways during LTP. *Neuron*, 13, p. 737-745.

Tomb., D.A., (1994). The phenomenology of post-traumatic stress disorder. *Psychiatric Clinics Of North America.*, 17, p. 237-250.

Tsuda., A., Tanaka., M., Ida., Y., Tsujimaru., S., and Nagasaki., N., (1986). Effects of shock controllability on rat brain noradrenaline turnover under FR-1 and FR-3 Sidman avoidance schedules. *Physiology and Behavior*, 37, p. 945-950.

Urban., I.J., Ontskul., A., Croiset., G., Cheng., Y., and de Wied., D., (1995). A long-lasting increase and decrease in synaptic excitability in the rat lateral septum are associated with high and low shuttle box performance, respectively. *Behavioral Brain Research*, 68, p. 173-183.

Uylings., H.B.M., and van Eden., C.G., (1990). Qualitative and quantitative comparison of the prefrontal cortex in rats and primate, including humans. *Progress in Brain Research*, 85, p. 31-62

Vasterling., J.J., Brailey., K., Constans., J.I., and Sutker., P.B., (1998). Attention and memory dysfunction in posttraumatic stress disorder. *Neuropsychology*. 12, p. 125-33

Vianna., M.R., Szapiro., G., McGaugh., J.L., Medina., J.H., and Izquierdo., I., (2001). Retrieval of memory for fear-motivated training initiates extinction requiring protein synthesis in the rat hippocampus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98, p. 12251-12254.

Vogt., B.A., Rosene., D.L., and Pandya., D.N., (1979). Thalamic and cortical afferents differentiate anterior from posterior cingulate cortex in the monkey. *Science*, 204, p. 205-207.

Vogt., B.A, and Pandya., D.N., (1987). Cingulate cortex of the rhesus monkey: II. Cortical afferents. *Journal of Comparative Neurology*, 262, p. 271-289.

Vouimba., R.,M., Garcia., R., and Jaffard., R., (1998). Opposite effects of lateral septal LTP and lateral septal lesions on contextual fear conditioning in mice. *Behavioral Neuroscience*, 112, p. 875-884.

Vouimba., R.M., Garcia., R., and Jaffard., R., (1999). Pretraining tetanic fimbrial stimulation impairs the expression but not the acquisition of contextual fear conditioning in mice. *Neuroscience*, 93, p. 869-876.

Vouimba., R.M., Garcia., R., Baudry., M., and Thompson., R.F., (2000). Potentiation of conditioned freezing following dorsomedial prefrontal cortex lesions does not interfere with fear reduction in mice. *Behavioral Neuroscience*, 114, p. 720-724.

Walker., D.L., and Davis., M., (2002). The role of amygdala glutamate receptors in fear learning, fear-potentiated startle, and extinction. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 71, p. 379-392.

Wang., J.-H., and Kelly., P.T., (1996). Regulation of synaptic facilitation by post-synaptic Ca^{2+} /CaM pathways in the hippocampal CA1 neurons. *Journal of Neurophysiology*, 76, p. 276-286.

Wang., J.-H., and Kelly., P.T., (1997). Attenuation of paired-pulse facilitation associated with synaptic potentiation mediated by postsynaptic mechanisms. *Journal of Neurophysiology*, 78, p. 2707-2716.

Watson., J.B., and Rayner., R., (1920). Conditional emotional reactions. *Journal of Experimental Psychology*, 3, p. 1-14.

Weisskopf., M., Castillo., P., Zalutsky., R. and Nicoll., R.A., (1994). Mediation of hippocampal mossy fiber long-term potentiation by cyclic AMP. *Science*, 265, p. 1878-1882.

Weisz., D.J., Clark., G.A., and Thompson., R.F., (1984). Increased responsivity of dentate granule cells during nictitating membrane response conditioning in rabbit. *Behavioral Brain Research*, 12, p. 145-154.

Whalen., P.J., Rauch., S.L., Etcoff., N.L., McInerney., S.C., Lee., M.B. and Jenike., M.A., (1998). Masked presentations of emotional facial expressions modulate amygdala activity without explicit knowledge. *Journal of Neuroscience*, 18, p. 411-418.

Wilensky., A.E., Schafe., G.E., and LeDoux., J.E., (2000). The amygdala modulates memory consolidation of fear-motivated inhibitory avoidance learning but not classical fear conditioning. *Journal of Neuroscience*, 20, p. 7059-7066.

Wilkinson., G.M., Lovibond., P.F., Siddle., D.A., and Bond., N., (1989). Effects of fear-relevance on electrodermal safety signal learning. *Biological Psychology*, 28, p. 89-104.

Wilson., A., Brooks., D.C., and Bouton., M.E., (1995). The role of the rat hippocampal system in several effects of context in extinction. *Behavioral Neuroscience*, 109, 828-836.

Winder., D.G., and Sweatt., J.D., (2001). Roles of serine/threonine phosphatases in hippocampal synaptic plasticity. *Nature Reviews : Neuroscience*, 2, p. 461-474.

Wisden., W., Errington., M.L., Williams., S., Dunnett., S.B., Waters., C., Hitchcock., D., Evan., G., Bliss., T.V., and Hunt., S.P., (1990). Differential expression of immediate early genes in the hippocampus and spinal cord. *Neuron*, 4, p. 603-614.

Wolpe., J., (1958). *Psychotherapy by reciprocal inhibition*. Stanford, California: Stanford University Press.

Wolpe., J., (1973). *The practice of behavior therapy* (2nd ed.). New York: Pergamon.

Worley., P.F., Bhat., R.V., Baraban., J.M., Erickson., C.A., McNaughton., B.L., and Barnes., C.A., (1993). Thresholds for synaptic activation of transcription factors in hippocampus: correlation with long-term enhancement. *Journal of Neuroscience*, 13, p. 4776-4786.

Wu., L.G., and Saggau., P., (1994). Presynaptic calcium is increased during normal synaptic transmission and paired-pulse facilitation, but not in long term potentiation in area CA1 of hippocampus. *The Journal of Neuroscience*, 14, p. 645-654.

Xia., Z., Dudek., H., Miranti., C.K., and Greenberg., M.E., (1996). Calcium influx via the NMDA receptor induces immediate early gene transcription by a MAP kinase/ERK-dependent mechanism. *Journal of Neuroscience*, 16, p. 5425-5436.

Zalutsky., RA., and Nicoll., RA., (1990). Comparison of two forms of long-term potentiation in single hippocampal neurons. *Science*, 248, p. 1619-1624.

Zucker., R. S., (1973), Changes in the statistic transmitter release during facilitation. *Journal of Neurophysiology*, 229, p. 787-810

Zucker., R.S., (1989). Short-term synaptic plasticity. *Annual Review of Neuroscience*, 12, p. 13-31

LEXIQUE

AA : Acide Arachidonique

AC : Adenylate cyclase

Aid : Cortex agranulaire insulaire dorsal

Aiv : Cortex agranulaire insulaire ventral

AMPA : α -Amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-4-propionic acid

ATV : Aire tegmentale ventrale

BLA : Noyau basolatéral amygdalien

BSA : Bovin Serum Albumin

CA1 : Champ ammonique 1

CA3 : Champ ammonique 3

Cad : Cortex cingulaire antérieur dorsal

CAMKII : Calmodulin-dependent protein kinase II

Cav : cortex cingulaire antérieur ventral

CC : Corps calleux

CE : Noyau central amygdalien

CPF : Cortex préfrontal

CPF lat : Cortex préfrontal latéral

CPFm : Cortex préfrontal médian

CPFo : Cortex préfrontal orbitaire

CREB : cAMP response element binding

DAG : Diacyl glycerol

D-AP5 : 2-Amino-5-phosphonopentanoic acid

DLT : Dépression à long terme

ERK : Extracellular signal-related protein kinase

GS : Goat serum

I-1 : Inhibiteur 1

IEG : Immediate early genes

IL/INFRA : Aire infralimbique

IRMf : Imagerie par résonance magnétique fonctionnelle

IP3 : Inositol-triphosphate

LA : Noyau latéral amygdalien

LO : Cortex latéro-orbitaire

MAPK : Mitogen-activated protein kinase

MD : Thalamus médio dorsal

MDc : Thalamus médio dorsal (partie centrale)

MDl : Thalamus médio dorsal (partie latérale)

MDm : Thalamus médio dorsal (partie médiane)

MDpl : Thalamus médio dorsal (partie paralamellaire)

MO : Cortex médio-orbitaire

NMDA : N-methyl-D-aspartate

NO : Monoxyde d'azote

PB : Phosphate buffer

PBS : Phosphate buffer saline

PKA : Protéine kinase dépendante de l'AMPc

PKC : Protéine kinase C

PLA2 : Phospholipase A2

PLT : Potentialisation à long terme

PL/PRE : Aire prélimbique

PPF : Paired Pulse Facilitation

PPSE : Potentiel post-synaptique excitateur

PrCm : Cortex précentral médian

PV : Noyau paraventriculaire

RC : Réponse conditionnée

RECI : Réponse émotionnelle conditionnée d'immobilisation

RI : Réponse inconditionnée

SBF : Stimulation basse fréquence

SC : Stimulus conditionnel

SHF : Stimulation haute fréquence

SI : Stimulus inconditionnel

TRE : Test de retention de l'extinction

VLO : Cortex ventro-latéro-orbitaire

VO : Cortex ventro-orbitaire

RESUME

Partant de la théorie neurobiologique de l'apprentissage et de la mémoire qui suggère que les phénomènes de plasticité synaptique peuvent être impliqués dans le maintien des informations nouvellement acquises, nous avons émis l'hypothèse selon laquelle un apprentissage basé sur l'inhibition d'un comportement acquis peut être caractérisé, dans certains circuits cérébraux, par un changement de polarité de la plasticité synaptique initiale. Ce changement de polarité pourrait jouer un rôle fondamental dans la rétention du nouvel apprentissage et de ce fait s'opposer à la persévération de la réponse initialement acquise. Sachant que le cortex préfrontal médian (CPFm) est impliqué dans l'inhibition du phénomène de persévération, nous avons analysé, chez la souris C57BL/6, si les synapses excitatrices de cette structure codent l'inhibition de la persévération émotionnelle, c'est-à-dire le maintien de l'extinction de la peur apprise. Pour cela, nous avons principalement utilisé l'approche électrophysiologique couplée au conditionnement de la peur (association « son-choc »), qui était suivi par une exposition ultérieure des animaux au stimulus conditionnel (le son) seul (procédure d'extinction).

Les résultats obtenus montrent que la procédure d'extinction, entraînant une diminution progressive de la peur apprise (diminution de l'immobilité conditionnelle à la perception du son), s'accompagne d'une séquence « dépression-potentialisation » de l'efficacité synaptique préfrontale. Nous avons ensuite analysé les relations liant la plasticité synaptique préfrontale (induite soit naturellement par l'épreuve d'extinction, soit artificiellement par des stimulations appropriées du thalamus médio-dorsal) au maintien ou à l'absence de maintien de l'extinction de la peur apprise. Nos résultats montrent que le maintien de la dépression (à l'aide d'une stimulation thalamique à basse fréquence) est associé à une persévération émotionnelle (absence de rétention à long terme de l'extinction), alors que la potentialisation naturelle (consécutive à l'extinction) ou artificielle (à l'aide d'une stimulation thalamique à haute fréquence) est associée à un maintien à long terme de l'extinction. Ces données électrophysiologiques ont été confirmées sur le plan immunohistochimique par l'observation, au cours de l'extinction, d'une conversion de la dépression préfrontale de l'immunoréactivité des gènes *c-fos* et *zif268* en potentialisation, et un maintien de la potentialisation de l'immunoréactivité au cours du test de rétention de l'extinction.

Ces travaux suggèrent que les synapses excitatrices préfrontales participent à l'inhibition de la persévération émotionnelle sous la forme d'une amplification durable de leur efficacité. Cette potentialisation synaptique préfrontale, en interaction avec les circuits amygdaliens, pourrait contribuer aux processus d'élimination de certains troubles anxieux.

Mots clés : cortex préfrontal médian, amygdale, extinction, syndrome de stress post-traumatique, électrophysiologie, immunohistochimie.

ABSTRACT

An influential neurobiological theory of learning and memory suggests that synaptic plasticity is implicated in long-term memory retention of newly acquired information. Based upon this hypothesis we postulated that a new learning based on behavioral inhibition could be characterised, in certain brain areas, by modifications in the polarity of initially-induced synaptic plasticity. These modifications could play an important role in the long-term retention of this learning, acting against perseveration of the initial response. Since the medial prefrontal cortex (mPFC) has been implicated in the inhibition of cognitive and emotional perseveration, we analysed, in C57BL/6 mice, if mPFC excitatory synapses are implicated in the long-term retention of extinguished fear. To achieve this goal, we used extracellular electrophysiological recordings in mice which were submitted to a fear conditioning procedure consisting of several presentations of a tone (conditional stimulus = CS)-shock (unconditional stimulus = US) couple followed by several tone alone presentations (extinction procedure).

Our results show that extinction of learned fear is associated both with a progressive decrease of learned fear and a sequence of inversion (from depression to potentiation) of mPFC synaptic efficacy. Moreover, induction of long-term potentiation in the mPFC by high-frequency stimulation of the medio-dorsal thalamus during extinction results in a lack of recovery of extinguished fear when tested one week following extinction, while long-term depression-like changes were associated with a return of fear. These results were confirmed by our immunohistochemical data showing that *c-fos* and *zif268* immunoreactivity in the mPFC was strongly decreased at the onset of extinction, potentiated at the end of extinction and maintained across the long-term retention of extinguished fear.

These results suggest that long lasting potentiation of synaptic efficacy in mPFC is implicated in the inhibition of emotional perseveration and could contribute, via an interaction with the amygdala, to elimination processes in certain anxiety disorders.

Keywords : median prefrontal cortex, amygdala, extinction, post-traumatic stress disorder, electrophysiology, immunohistochemistry.