UNIVERSITE LOUIS PASTEUR STRASBOURG

THESE

Présentée pour obtenir le grade de
Docteur de l'Université Louis Pasteur de Strasbourg
Spécialité : Neurosciences

par
Alexandre SEILLIER

Etude des mécanismes impliqués dans le déficit d'inhibition latente induit par la lésion du cortex entorhinal

Soutenue le 1er octobre 2004 devant la Commission d'Examen suivante

Jean-Marie DANION	Rapporteur interne
Ronan DEPOORTERE	Rapporteur externe
Georges DI SCALA	Membre invité
Catherine LE MOINE	Rapporteur externe
Monique MAJCHRZAK	Examinateur
Bruno WILL	Directeur de thèse

Remerciements

J'aimerais, avant tout, exprimer toute ma gratitude envers les membres du jury pour leur disponibilité et pour l'honneur qu'ils m'ont fait en acceptant d'examiner ce travail. Je remercie tout particulièrement le Professeur Jean-Marie Danion, le Docteur Catherine Le Moine et le Docteur Ronan Depoortere d'avoir accepté la lourde tâche d'être rapporteurs de ce travail.

Je tiens à remercier doublement le Professeur Bruno Will qui, d'une part, en tant que directeur du Laboratoire de Neurosciences Comportementales et Cognitives, m'a donné la possibilité de m'initier à la recherche en m'accueillant dans son laboratoire et qui, d'autre part, en tant que directeur de ma thèse, a su être particulièrement disponible malgré ses nombreuses fonctions. Merci, car sans vous cette thèse n'aurait pas vu le jour, merci de m'avoir accordé votre confiance.

Mes remerciements les plus vifs sont adressés au Dr Monique Majchrzak qui m'a encadré dès mon année de DEA. Merci d'avoir guidé mes premiers pas dans la recherche. Merci pour ta rigueur, ton exigence intellectuelle et enfin ta patience face à mes imprécisions. Je te suis particulièrement reconnaissant pour la qualité scientifique de ton encadrement.

Je tiens également à remercier le Dr Georges Di Scala qui, avant d'être bordelais, était responsable de l'équipe "Neurobiologie des apprentissages associatifs" à Strasbourg dans laquelle ce travail de thèse a été réalisé. Merci d'avoir été un guide tout au long de ce parcours scientifique et personnel.

J'adresse également de sincères remerciements à plusieurs personnes qui, en m'accueillant au sein de leurs équipes respectives, m'ont permis de réaliser une partie de mon travail et m'ont fait profiter de leur expertise. Merci au Dr Jean Zwiller, ainsi qu'au Dr Nathalie Thiriet, de m'avoir initié à la technique d'hybridation *in situ*. Merci au Dr Lise Stoeckel, ainsi qu'à Marie-Jeanne et Sandra, de m'avoir transmis le savoir-faire technique indispensable à la technique d'immunohistochimie. Merci au Dr Berthe Vivien-Roels pour son accompagnement dans les dosages de corticostérone.

S'il est une personne incontournable dans ces remerciements, c'est bien Karin Herbeaux. Merci pour ton aide ô combien précieuse. Merci pour ta bonne humeur. Merci pour toutes tes qualités tant sur le plan professionnel que sur le plan humain. Merci pour ton amitié.

Merci à toutes ces personnes sans qui rien ne serait possible. Merci à Olivier Bildstein, René Paul, Daniel Egesi et Georges Edomwonyi pour les soins apportés aux animaux. Merci à

Sébastien Geiger pour les soins apportés aux ordinateurs. Merci également à Catherine Krieger.

Merci à tous ceux qui m'ont apporté leur aide, aussi bien technique que scientifique : Alexandra Barbelivien, Jean-christophe Cassel, Suzanne Cassel, Etienne Coutureau, Barbara Ferry, Jeannette Grootendorst, Hélène Jeltsch, Christian Kelche, Christine Lazarus, Lilianne Manning, Alain Marchand, Chantal Mathis, Anne Peirera, Natalia Traissard, Sarah Schimchowitch, Jeanne Stemmelin, Elise Vogel.

Au cours de ces années, j'ai eu la chance de rencontrer ceux qui ont fait de ces années, plus que des années de thèse : Mario Aparicio, Fabrice Bertrand, Erwan Billy, Alexandra Bour, Anne Botzung, Ekatarina Denkova, Rodrigue Galani, Nicolas Giret, Alexandra de Kaenel, Anelise Lazaris, David Luck, Patricia Marques-Pereira, Véronique Pascalis, Céline Riegert, Sylvia Wirth-Buch. Avec une place toute particulière pour Olivia Lehmann, avec qui j'ai commencé cette aventure. Je n'oublie pas ma soeur et mes amis. Et le meilleur pour la fin, Yoann Dieu, celui qui a accompagné mes premiers pas sur Strasbourg, au véritable Ami que tu es, merci Yo!

A mes parents

Introduction générale

Introduction 1
Objectif de la thèse 2
Structure de la thèse 3

Première partie

L'inhibition latente

Propriétés de l'inhibition latente 5
Interprétations théoriques de l'inhibition latente 6
Inhibition latente et schizophrénie 8
Substrat neurobiologique de l'inhibition latente 9
Systèmes de neurotransmission 9
Système dopaminergique 10
Système sérotoninergique 11
Système glutamatergique 13
Système cholinergique 14
Structures cérébrales 15
Noyau accumbens 15
Formation hippocampique 17
Cortex préfrontal 18
Amygdale 19

Organisation anatomique du cortex entorhinal chez le Rat

Localisation et sous divisions 20
Lamination et types cellulaires 22
Principales connexions entre le cortex entorhinal et les autres composantes de la formation hippocampique 24
Principales afférences au cortex entorhinal 26
Principales efférences du cortex entorhinal 29
Neuropathologie de la schizophrénie : focalisation sur le cortex entorhinal 31

Deuxième partie : contribution expérimentale

Considérations méthodologiques..... 33

Chapitre 1 : effets de la lésion du cortex entorhinal sur l'inhibition latente

Introduction 36

Expérience 1 : Effet du nombre de présentations du son lors de la phase de préexposition sur l'inhibition latente dans la situation de réponse émotionnelle conditionnée 38

Expérience 2 : Effet de l'intensité du stimulus inconditionnel sur l'inhibition latente dans la situation de réponse émotionnelle conditionnée 50

Expérience 3 : Effet de la lésion du cortex entorhinal sur l'inhibition latente dans la situation de réponse émotionnelle conditionnée 55

Expérience 4 : Détermination de nouveaux paramètres pour l'inhibition latente dans la situation de réponse émotionnelle conditionnée 64

Expérience 5 : Effet de la lésion du cortex entorhinal sur l'inhibition latente dans la situation de réponse émotionnelle conditionnée (nouveaux paramètres)80

Expérience 6 : Mise en évidence de l'inhibition latente dans la situation d'aversion gustative conditionnée 92

Expérience 7 : Effet de la lésion du cortex entorhinal sur l'inhibition latente dans la situation d'aversion gustative conditionnée 98

Discussion..... 106

Chapitre 2 : Etude du mécanisme impliqué dans les effets délétères de la lésion du cortex entorhinal

Introduction 109

Expérience 8 : Effet de la lésion du cortex entorhinal sur la réponse émotionnelle conditionnée 111

Expérience 9 : Effet de la lésion du cortex entorhinal sur la réactivité à des chocs électriques appliqués aux pattes 118

Expérience 10 : Effet de la lésion du cortex entorhinal sur l'anxiété 121

Expérience 11 : Effet de la lésion du cortex entorhinal sur le niveau de corticostérone plasmatique 129

Expérience 12 : Effet de l'inactivation réversible du cortex entorhinal sur l'inhibition latente 137

Discussion 148

Chapitre 3 : Effet de la lésion du cortex entorhinal sur le fonctionnement du système dopaminergique méso-accumbens

Introduction 152

Expérience 13 : Effet de la lésion du cortex entorhinal sur la familiarisation à un environnement nouveau et sur l'activité locomotrice spontanée 156

Expérience 14 : Effet de la lésion du cortex entorhinal sur l'activité locomotrice induite par l'administration de *d*-amphétamine 165

Expérience 15 : Mise en évidence de la préférence de place induite par la *d*-amphétamine 177

Expérience 16 : Effet de la lésion du cortex entorhinal sur la préférence de place induite par la *d*-amphétamine. 187

Expérience 17 : Effet de la lésion du cortex entorhinal sur l'expression du gène *c-fos* induite par l'halopéridol et l'olanzapine..... 196

Expérience 18 : Effet de la lésion du cortex entorhinal sur l'expression de c-Fos induite par l'halopéridol, l'olanzapine et la clozapine. Détermination du phénotype (met-enképhaline) des neurones ciblés..... 212

Discussion..... 244

Chapitre 4 : Effet de la lésion du cortex entorhinal sur l'intégrité fonctionnelle du récepteur D_3 à la dopamine

Introduction 248

Expérience 19 : Effet de la lésion du cortex entorhinal sur l'expression du gène *c-fos* induite par le nafadotride..... 253

Expérience 20 : Effet de la lésion du cortex entorhinal sur l'activité locomotrice induite par le nafadotride 262

Expérience 21 : Effet de la lésion du cortex entorhinal sur l'hypoactivité locomotrice induite par le PD128907..... 269

Discussion..... 273

Discussion générale 275

Bibliographie 282

Annexes

Coloration au violet de Crésyl

Révélation de l'acétylcholinestérase

Hybridation *in situ*

Abréviations

5-HIAA	acide 5-hydroxyindolacétique
5,7-DHT	5,7-dihydroxytryptamine
6-OHDA	6-hydroxydopamine
7-OH-DPAT	7-hydroxy-2(-di-*n*-propylamino)tetraline
8-OH-DPAT	8-hydroxy-2(-di-*n*-propylamino)tetraline
ACTH	hormone adrénocorticotropique
AChE	acétylcholinestérase
AE	champ transitionnel amygdalo-entorhinal
AMPA	α-amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazolepropionate
AMPc	adénosine monophosphate cyclique
ARN	acide ribonucléique
ARNm	ARN messager
ARNt	ARN transfert
ATP	acide triphosphate
ANOVA	analyse de variance
BDNF	*brain derived neurotrophic factor*
CA1	champ ammonique 1 de l'hippocampe
CA3	champ ammonique 3 de l'hippocampe
CEI	cortex entorhinal intermédiaire
CEL (ou LEC)	cortex entorhinal latéral
CEM (ou MEC)	cortex entorhinal médian
Cg	cortex cingulaire
CPu	noyau caudé-putamen
CRE	*cAMP response element*
CREB	*cAMP response element binding*
DG	Gyrus denté
DOPAC	acide 3,4-dihydroxyphénylacétique
EC	champ entorhinal caudal
EC	cortex entorhinal
EID	champ entorhinal intermédiaire dorsal
EIV	champ entorhinal intermédiaire ventral
ELD	champ entorhinal latéral dorsal

ENTO	entorhinal (animal porteur d'une lésion du cortex entorhinal)
GABA	acide γ-amino butyrique
HPA	hypothalamo-pituitaire-adrénocortical
IgG	Immunoglobuline G
IL	inhibition latente
LA (ou Amy lat)	amygdale latérale
LAP	nombre total de lapements
LAT	latence
LCR	liquide céphalo-rachidien
LiCl	chlorure de lithium
MAO	monoamine oxydase
ME	champ entorhinal médian
NA	non apparié
NaCl	chlorure de sodium
NMDA	N-méthyl-D-Aspartate
NPE	non préexposé
PaS (ou ParaS)	parasubiculum
PBS	phosphate buffer saline
PCP	phencyclidine
PCPA	para-chlorophénylalanine
PE	préexposé
PER	cortex périrhinal
POR	cortex postrhinal
PrL	prélimbique
PrS (ou PréS)	présubiculum
PSEUDO	pseudo-opéré
R (ou R10 ou R25)	rapport de suppression ; rapport de consommation
Rf	scissure rhinale
RCgCx	cortex cingulaire rostral
REC	réponse émotionnelle conditionnée
SC	stimulus conditionnel
SI	stimulus inconditionnel
SLG	Schmajuk-Lam-Gray (modèle SLG)
SUB (et Subi)	subiculum

TTX	tétrodotoxine
VTA	aire tegmentale ventrale

INTRODUCTION GENERALE

Introduction

La préexposition non renforcée à un stimulus utilisé ultérieurement comme stimulus conditionnel dans le cadre d'un conditionnement induit, dans ce conditionnement, un déficit de réponse conditionnée à ce stimulus. Depuis sa découverte par Lubow et Moore chez la Chèvre et le Mouton (Lubow et Moore, 1959), ce phénomène a pu être observé dans un grand nombre d'espèces (parmi lesquelles le Rat et l'Homme), de situations expérimentales (de conditionnement classique ou instrumental) et avec une large gamme de stimuli (pour revue, voir (Lubow, 1989). Ce phénomène, appelé **inhibition latente**, a fait l'objet de nombreuses études et a joué un grand rôle dans l'élaboration des théories modernes de l'apprentissage chez l'animal (voir par exemple Pearce et Hall, 1980). La mise en évidence d'un déficit d'inhibition latente chez des patients schizophrènes en phase aiguë de la maladie (Baruch et coll., 1988) a largement contribué à stimuler l'étude de ce phénomène chez l'animal à cause des retombées potentielles de ces travaux sur le plan clinique. Bien que l'interprétation théorique de l'inhibition latente soit encore largement débattue, la sensibilité de l'inhibition latente aux mêmes manipulations chez l'Homme et l'animal indique qu'elle pourrait être sous-tendue par des processus psychologiques similaires chez l'Homme et l'animal (voir Lubow et Gewirtz, 1995). L'inhibition latente a d'ailleurs été proposée comme modèle d'étude de processus altérés dans la schizophrénie (De Hert et Ellenbroek, 2000 ; Gray et coll., 1991), et a été reconnue comme présentant une validité d'aspect, de prédiction et de construction en regard de la schizophrénie (Ellenbroek et Cools, 1990). Dès lors, l'identification du substrat neurobiologique impliqué dans l'inhibition latente chez l'animal est susceptible de fournir des hypothèses relatives au substrat neurobiologique altéré chez les patients schizophrènes présentant un déficit d'inhibition latente.

Développés initialement à partir d'approches pharmacologiques puis complétés par des approches lésionnelles, les modèles neurobiologiques de l'inhibition latente attribuent un rôle central à l'innervation dopaminergique au sein du noyau accumbens, l'activité de ce dernier étant modulée par les afférences glutamatergiques provenant de la formation hippocampique (Weiner, 1990 ; Weiner et Feldon, 1997). Parmi les différentes composantes de la formation hippocampique, il a été montré que la région rétrohippocampique serait nécessaire pour l'expression de l'inhibition latente (Yee et coll., 1995a ; Yee et coll., 1997), contrairement à l'hippocampe qui n'interviendrait que dans la spécificité contextuelle de cette dernière (Holt et Maren, 1999 ; Honey et Good, 1993). Plus précisément, il avait été montré, lorsque ce travail

de thèse a été entamé, que seule la lésion du cortex entorhinal supprimait l'inhibition latente (Coutureau et coll., 1999), des lésions du subiculum (Coutureau et coll., 1999 ; Oswald et coll., 2002) ou de la fimbria-fornix (Pouzet et coll., 1999 ; Weiner et coll., 1998, mais Nicolle et coll., 1989) étant dépourvues d'effet. Bien que ces résultats suggèrent l'implication d'une voie entorhino-accumbens (n'empruntant pas la fimbria-fornix) dans l'inhibition latente, les relations du cortex entorhinal avec d'autres structures cérébrales impliquées dans ce phénomène ne permettent pas d'imputer aisément la suppression d'inhibition latente à la seule perte de l'intégrité de cette voie. La recherche des processus sous-tendant le déficit d'inhibition latente consécutif à la lésion du cortex entorhinal chez l'animal permettrait d'aider à la compréhension des altérations neurobiologiques sous-tendant le déficit d'inhibition latente chez les patients schizophrènes, l'existence d'anomalies neuropathologiques au niveau du cortex entorhinal chez des patients schizophrènes (pour revue, voir Arnold, 2000) conforte d'ailleurs cette démarche.

Objectif de la thèse

Compte tenu de ces données, le premier objectif de mon travail de thèse a consisté à essayer de préciser le(s) mécanisme(s) par le(s)quel(s) la lésion du cortex entorhinal pouvait supprimer l'inhibition latente. Pour ce faire, nous avons évalué les conséquences de lésions excitotoxiques bilatérales du cortex entorhinal, non seulement sur le phénomène d'inhibition latente, mais également sur divers processus dont l'altération est susceptible d'entraîner de manière non spécifique un déficit d'inhibition latente. Etant donné la possibilité de compensations fonctionnelles dans le cas d'une approche lésionnelle, nous avons également testé les effets d'une inactivation transitoire du cortex entorhinal sur le phénomène d'inhibition latente. Enfin, sur la base de nos résultats d'une part, et devant l'importance du système dopaminergique méso-accumbens dans le phénomène d'inhibition latente d'autre part, nous avons cherché à évaluer les conséquences fonctionnelles de nos lésions sur ce système de neurotransmission.

Structure de la thèse

La **première partie** de ce mémoire est consacrée à la présentation du phénomène d'inhibition latente, notamment ses propriétés, ses interprétations théoriques, ainsi que les substrats neurobiologiques qu'on pense être impliqués dans ce phénomène. Dans cette même partie, l'organisation anatomique du cortex entorhinal est présentée.

Ma contribution expérimentale est exposée dans la **deuxième partie** de ce mémoire, sous la forme de quatre chapitres comportant chacun plusieurs expériences. Le premier chapitre regroupe les expériences ayant porté sur l'étude des effets de la lésion du cortex entorhinal sur le phénomène d'inhibition latente, ainsi que les expériences de paramétrage des deux tâches comportementales utilisées. Le deuxième chapitre porte sur l'évaluation des effets de la lésion du cortex entorhinal sur divers processus dont l'altération est susceptible d'entraîner de manière non spécifique un déficit d'inhibition latente. Le troisième chapitre est consacré à l'étude des effets de la lésion du cortex entorhinal sur le fonctionnement du système dopaminergique méso-accumbens. Enfin, dans le quatrième chapitre, l'hypothèse d'une altération de l'intégrité fonctionnelle des récepteurs D_3 à la dopamine consécutive à la lésion du cortex entorhinal est testée.

Chaque chapitre faisant l'objet d'une discussion finale confrontant les résultats obtenus aux données de la littérature, seuls les points importants soulevés par ce travail sont repris dans une discussion générale qui constitue la **troisième partie** de ce mémoire.

PREMIERE PARTIE

L'INHIBITION LATENTE

L'inhibition latente est étudiée dans un grand nombre de situations expérimentales (pour revue, voir Lubow, 1989). Le protocole expérimental commun utilisé pour sa mise en évidence est décrit ci-après. Chez l'animal, un paradigme d'inhibition latente comprend deux phases successives : une **phase de préexposition** et une **phase de conditionnement**. Au cours de la phase de préexposition, le stimulus, qui sera ultérieurement utilisé comme stimulus conditionnel (SC), est présenté de façon répétée dans le contexte du dispositif expérimental. Lors de la phase de conditionnement, ce même stimulus est utilisé comme stimulus conditionnel et est apparié au stimulus inconditionnel (SI). L'inhibition latente est évaluée en comparant la réponse conditionnée des animaux au stimulus préexposé à la réponse conditionnée des animaux à un stimulus non préexposé. Dans les protocoles expérimentaux dits "*within*", cette comparaison s'effectue au sein du même groupe d'animaux mais vis à vis de deux stimuli différents dont seul l'un a été préexposé. Dans les protocoles expérimentaux dits "*between*", cette comparaison s'effectue vis à vis du même stimulus mais la comparaison est faite entre deux groupes d'animaux dont seul l'un a été préexposé, l'autre groupe d'animaux ayant passé un temps équivalent dans le dispositif expérimental lors de la phase de préexposition mais sans que le stimulus lui soit présenté. La comparaison de la réponse conditionnée au stimulus préexposé et au stimulus non préexposé peut être réalisée soit pendant la phase de conditionnement (protocole expérimental dit "*on-baseline*"), soit lors d'une troisième phase, la **phase de test** (protocole expérimental dit "*off-baseline*") ; dans ce cas, la réponse conditionnée des animaux aux stimuli (préexposé et non préexposé) est évaluée en extinction (absence du SI) à l'issue d'un nombre déterminé d'appariements entre le SC et le SI.

Bien que le phénomène d'inhibition latente ait également été décrit chez l'Homme, les paradigmes utilisés chez l'Homme diffèrent quelque peu de ceux utilisés chez l'animal (voir Lubow et Gewirtz, 1995). Ainsi, chez l'Homme, un protocole d'inhibition latente comprend deux phases : la phase de préexposition et la phase de test. Au cours de la phase de préexposition, le participant apprend qu'il va s'engager dans une tâche dite de masquage qui a pour but, chez les personnes du groupe préexposé, de détourner leur attention du stimulus ; les personnes du groupe non préexposé réalisent la tâche de masquage sans que le stimulus ne soit présenté. Pour la phase de test, la plupart des auteurs utilisent une tâche qui consiste à découvrir la règle gouvernant l'incrément (par exemple, l'augmentation du nombre sur un compteur), celui-ci étant contingent de la présentation du stimulus précédemment préexposé ou non selon les groupes.

Propriétés de l'inhibition latente

L'inhibition latente est spécifique du stimulus de préexposition, cette spécificité concernant non seulement sa qualité (stimulus A *vs* stimulus B ; Lubow et Moore, 1959 ; Reiss et Wagner, 1972) mais également son intensité (intensités différentes d'un même stimulus A ; Schnur et Lubow, 1976), bien que l'on puisse faire l'hypothèse de l'existence d'un phénomène de généralisation dans certains cas (Siegel, 1969). L'ampleur de l'inhibition latente, quant à elle, dépend du nombre de préexpositions du stimulus (Lantz, 1973), de la durée du stimulus (Albert et Ayres, 1989 ; Westbrook et coll., 1981), et donc de la quantité totale de préexposition (Ayres et coll., 1992). Enfin, l'intervalle inter-stimuli semble être un élément tout aussi critique à la mise en évidence de ce phénomène (Lantz, 1973 ; Schnur et Lubow, 1976, mais Crowell et Anderson, 1972 ; DeVietti et Barrett, 1986).

La dépendance au contexte de l'inhibition latente est certainement sa propriété qui a été la plus étudiée compte tenu de son importance dans l'élaboration des modèles théoriques de ce phénomène. Le contexte, du moins dans la littérature animale, fait généralement référence aux stimuli environnementaux tels que la boîte expérimentale qui sont relativement constants tout au long de l'expérience. Dans un paradigme d'inhibition latente typique, les différentes phases (préexposition, conditionnement et test) sont conduites dans le même contexte. Or, comme on peut le constater dans le tableau ci-dessous (contextes : A, B, C), l'inhibition latente peut être affectée par des changements de contexte entre ces différentes phases (voir Westbrook et coll., 2000).

préexposition	conditionnement	test	inhibition latente
A	A	A	Intacte
A	B	B	Altérée
A	B	C	Altérée
A	B	A	Intacte
A	A	B	Intacte

Il apparaît donc que le changement de contexte critique pour affecter l'inhibition latente concerne celui mis en place entre les phases de préexposition et de conditionnement, les effets délétères de ce changement pouvant être compensés si les animaux sont testés dans le contexte utilisé pour la phase de préexposition. La dépendance de l'inhibition latente au contexte a également été étendue du contexte physique (boîte de conditionnement) au contexte temporel (voir Moron et coll., 2002) dont dépendrait également la sensibilité de l'inhibition latente au délai, le passage du temps pouvant être considéré comme un changement de contexte (Aguado et coll., 1994b ; Killcross et coll., 1998 ; Rosas et Bouton, 1997 ; Westbrook et coll., 1981 ; Westbrook et coll., 2000).

D'autres arguments encore viennent étayer cette conclusion sur l'importance du contexte dans le phénomène d'inhibition latente. En effet, une exposition au contexte seul (sans SC ni SI) peut entraîner une diminution d'inhibition latente, si cette exposition est réalisée entre les phases de préexposition et de conditionnement (Escobar et coll., 2002a ; Grahame et coll., 1994, mais Hall et Minor, 1984), au cours de la phase de préexposition (longues périodes en l'absence du stimulus ; Escobar et coll., 2002a), ou entre les phases de conditionnement et de test (Grahame et coll., 1994), mais pas lorsqu'elle est réalisée avant la phase de préexposition (Escobar et coll., 2002a). Ces différents résultats ont été interprétés comme reflétant la mise en place, lors de la phase de préexposition, d'une association entre le SC et le contexte, cette association étant affaiblie consécutivement aux expositions de l'animal au contexte seul.

Interprétations théoriques de l'inhibition latente

Plusieurs théories ou modèles ont essayé de rendre compte du phénomène d'inhibition latente et notamment de ses propriétés (comme le fait de dépendre du contexte). Le but de cette partie n'est pas de les présenter tous en détail (pour revue, voir Escobar et coll., 2002b), mais de faire ressortir quelques éléments essentiels dans la manière dont le phénomène d'inhibition latente peut être interprété au travers des modèles les plus influents. L'inhibition latente a d'abord été proposée comme résultant d'une diminution de l'attention portée au SC (Lubow et coll., 1976 ; Mackintosh, 1975) ou de son associabilité (Pearce et Hall, 1980). Les modèles développés ultérieurement font tous jouer un rôle important au contexte, mais diffèrent quant à son rôle, au type d'association supposée acquise lors de la préexposition (SC-contexte, SC-rien) et à la nature du déficit lié à la préexposition (déficit d'acquisition de la réponse conditionnée *vs* déficit de performance).

Ainsi, le modèle "*Standard Operating Procedure*" (SOP, Wagner, 1981) propose que la présentation du SC dans le contexte lors de la phase de préexposition produirait une forte association entre ces deux types de stimuli (qui se trouvent dans un état actif A1). Lors de la phase de conditionnement, le contexte activerait une représentation du SC (qui se trouverait alors dans un état inactif A2). Le SI se trouvant lui dans un état actif A1, une association entre ces deux stimuli serait rendue difficile.

Selon le modèle de Grahame et collaborateurs (Grahame et coll., 1994), fondé sur l'hypothèse du comparateur de Miller (Miller et Matzel, 1988), lors de la phase de préexposition, il se créerait une forte association SC-contexte, et lors de la phase de conditionnement, il se créerait des associations entre tous les stimuli présents (SC-SI, SI-contexte et SC-contexte). Lors de la présentation ultérieure du SC (lors de la phase de test), ce dernier activerait plusieurs représentations du SI, l'une directe par l'association SC-SI, et l'autre indirecte par l'association SC-contexte qui à son tour activerait une représentation du SI par l'association SI-contexte. Selon l'hypothèse du comparateur, ces deux représentations du SI (directe et indirecte) seraient comparées, la première conduisant à répondre au SC, la dernière s'y opposant.

D'autres auteurs (Lubow et Gewirtz, 1995) proposent que le contexte servirait "d'*occasion setter*" pour l'association SC-rien, un "*occasion setter*" étant un stimulus qui module l'expression d'une association, indépendamment de sa propre valeur prédictive. Lors du conditionnement, le contexte, identique au contexte de préexposition, permettrait de recouvrer l'association SC-rien et de ce fait retarderait l'acquisition de l'association SC-SI.

Un autre modèle (Bouton, 1993) stipule que le contexte permettrait de rendre moins ambigu la signification du SC lors du test, celui-ci pouvant à la fois évoquer l'absence d'événement (association SC-rien lors de la phase de préexposition) et la présence du SI (association SC-SI lors de la phase de conditionnement). Le contexte contrôlerait l'expression de l'association SC-rien, l'association excitatrice SC-SI étant indépendante du contexte.

Enfin, les deux modèles les plus influents actuellement dans le domaine de la neurobiologie sont certainement le modèle du *switching* (Weiner, 1990) et le modèle Schmajuk-Lam-Gray (SLG, Schmajuk et coll., 1996).

Le modèle du *switching* (Weiner, 1990) propose qu'une association SC-pas d'événement serait acquise lors de la phase de préexposition et que celle-ci continuerait de contrôler le comportement de l'animal lors de la phase de conditionnement, et ce malgré la présence de le

nouvelle contingence SC-SI. De ce fait, l'inhibition latente est vue comme un retard de prise en compte de la nouvelle règle de contingence SC-SI.

Quant au modèle SLG (Schmajuk et coll., 1996) il propose que l'inhibition latente résulterait d'une diminution de la nouveauté suite à la formation des associations SC-SC, SC-contexte et contexte-contexte qui se mettent en place lors de la préexposition. De plus, ce modèle stipule que cette diminution de la nouveauté non seulement ralentirait l'acquisition de l'association SC-SI, mais diminuerait également la capacité du réseau à recouvrer cette association.

Inhibition latente et schizophrénie

La première étude expérimentale à s'intéresser directement à l'inhibition latente et à la schizophrénie est celle de Lubow et collaborateurs (Lubow et coll., 1987), ces derniers ayant signalé une inhibition latente normale chez des schizophrènes paranoïdes ou non par rapport à des sujets non schizophrènes. Ayant émis l'hypothèse que ce résultat serait lié à des différences non contrôlées dans le degré de chronicité des sujets schizophrènes, Baruch et collaborateurs (Baruch et coll., 1988) ont mesuré l'inhibition latente chez des sujets non schizophrènes et chez des schizophrènes en phase aiguë ou en phase chronique de la maladie. Présente aussi bien chez les sujets non schizophrènes que chez les schizophrènes en phase chronique, l'inhibition latente s'est avérée déficitaire chez les schizophrènes en phase aiguë. Ce résultat fut répliqué par la suite par le même groupe (Gray et coll., 1992a, mais Swerdlow et coll., 1996), mais aussi plus récemment par d'autres auteurs qui ont également constaté une augmentation de l'inhibition latente chez les schizophrènes en phase chronique (Rascle et coll., 2001). Dans la mesure où l'augmentation du niveau de dopamine qui fait suite à l'injection d'amphétamine supprime l'inhibition latente chez l'animal (pour revue, voir Moser et coll., 2000), mais également chez des sujets humains sains (Gray et coll., 1992b ; Salgado et coll., 2000 ; Thornton et coll., 1996) et que cet effet peut être bloqué par l'administration de composés antipsychotiques, tout au moins chez l'animal (pour revue, voir Moser et coll., 2000 ; tableau 8), il a été proposé que le rétablissement de l'inhibition latente chez les schizophrènes en phase chronique serait lié aux effets stabilisants du traitement antipsychotique à long terme. En accord avec cette proposition, il a été récemment montré que l'inhibition latente était en effet déficitaire chez des patients schizophrènes ne suivant pas de traitement antipsychotique, mais était présente chez des sujets non schizophrènes ou chez des

schizophrènes sous antipsychotiques (Vaitl et coll., 2002, mais Williams et coll., 1998). Cependant, Gray et collaborateurs (Gray et coll., 1995) ont montré que chez des schizophrènes en phase aiguë, n'ayant jamais reçu de médication, l'inhibition latente était déficitaire chez ceux dont la maladie était présente depuis moins de 12 mois, mais était intacte chez ceux dont la maladie était présente depuis plus de 12 mois. Ce dernier résultat laisse supposer qu'il existerait un processus intrinsèque à l'évolution de la maladie qui permettrait de rétablir l'inhibition latente.

Substrat neurobiologique de l'inhibition latente

L'inhibition latente ayant été proposée comme modèle d'étude de la schizophrénie (De Hert et Ellenbroek, 2000 ; Ellenbroek et Cools, 1990 ; Gray et coll., 1991), les stratégies de recherche menées chez l'animal ont fortement été influencées par les données relatives aux atteintes neurochimiques ou neuroanatomiques décrites chez les patients schizophrènes.

Systèmes de neurotransmission

Les études sur les dysfonctionnements de systèmes de neurotransmission dans la schizophrénie ont largement été dominées par "l'hypothèse dopaminergique". D'une valeur heuristique non réfutable, cette hypothèse fondée sur l'implication exclusive d'un système de neurotransmission, n'a cependant pas permis de rendre compte de la complexité de la pathologie, d'où l'intérêt porté à d'autres systèmes de neurotransmission. Ces études ont conduit à l'élaboration d'autres hypothèses, comme "l'hypothèse glutamatergique" (Bunney et coll., 1995 ; Carlsson et coll., 1999 ; Tamminga, 1999), "l'hypothèse sérotoninergique" (Aghajanian et Marek, 2000) ou "l'hypothèse cholinergique" (Tandon, 1999). Cependant, aucune des ces hypothèses ne s'est avérée suffisante à elle seule, soulignant l'implication d'interactions complexes entre ces différents systèmes de neurotransmissions dans la pathologie.

Système dopaminergique

Ce système est sans aucun doute le système de neurotransmission qui a reçu le plus d'intérêt. L'idée selon laquelle une activité dopaminergique exacerbée pourrait entraîner une suppression d'inhibition latente est devenue rapidement évidente suite aux nombreuses études ayant décrit un déficit d'inhibition latente après l'administration d'amphétamine (pour revue, voir Moser et coll., 2000). Cependant, l'absence d'effet sur l'inhibition latente d'agonistes dopaminergiques (Feldon et coll., 1991, mais Dunn et coll., 1991) ou de concentrations élevées d'amphétamine (Weiner et coll., 1987) a souligné l'importance d'une libération de dopamine impulsion-dépendante d'une part, et d'une action sur la voie méso-cortico-limbique d'autre part, pour qu'une activité dopaminergique exacerbée induise un déficit d'inhibition latente. L'importance de la libération de dopamine impulsion-dépendante a en particulier bien été documentée et a permis de préciser la phase du paradigme pendant laquelle elle devait avoir lieu pour qu'un déficit d'inhibition latente soit induit. Ainsi, il a été montré que la libération de dopamine consécutive à une première injection d'amphétamine est calcium-indépendante (et de ce fait impulsion-indépendante), alors que l'augmentation de la libération de dopamine induite par une deuxième injection 24 heures après la précédente (sensibilisation) est calcium-dépendante (Warburton et coll., 1996). En accord avec ces données, l'administration d'amphétamine lors de la phase de conditionnement seule (ou lors de la phase de préexposition seule), ne permet pas d'obtenir le déficit d'inhibition latente normalement observé lorsque l'amphétamine est administrée avant les deux phases (Weiner et coll., 1988). Par ailleurs, la libération de dopamine induite par l'amphétamine étant calcium-indépendante pendant la première heure, puis devenant progressivement calcium-dépendante dans l'heure suivante (Warburton et coll., 1996), une seule administration devient suffisante pour supprimer l'inhibition latente lorsqu'un délai suffisant sépare le moment d'injection de la phase de conditionnement (McAllister, 1997 ; Moran et coll., 1997) ou de test chez l'Homme (Gray et coll., 1992b ; Thornton et coll., 1996). Ainsi, une augmentation de l'activité dopaminergique impulsion-dépendante induit un déficit d'inhibition latente si elle a lieu pendant la phase de conditionnement.

L'implication de l'activité dopaminergique a également été confirmée par l'utilisation de composés antipsychotiques (pour revue, voir Moser et coll., 2000). Ces derniers permettent non seulement de bloquer le déficit d'inhibition latente induit par l'amphétamine, mais

également de faciliter les effets d'un faible nombre de préexpositions ne conduisant pas à de l'inhibition latente. De plus, en accord avec l'implication du système dopaminergique lors du conditionnement, ces deux effets dépendent de l'action des antipsychotiques au cours de cette phase (Peters et Joseph, 1993 ; Shadach et coll., 2000). Enfin, l'action de ces derniers a été attribuée au blocage des récepteurs à la dopamine, et plus particulièrement au blocage des récepteurs de la famille D_2, des antagonistes des récepteurs D_1 n'affectant pas l'inhibition latente (Trimble et coll., 2002).

Enfin, il faut noter que toute action entraînant une modulation secondaire de l'activité du système dopaminergique est susceptible d'affecter l'inhibition latente. Ainsi, l'administration de nicotine, en augmentant la libération de dopamine dans le noyau accumbens, supprime l'inhibition latente (Joseph et coll., 1993). De même, le blocage des récepteurs à la neurotensine supprime l'inhibition latente (Binder et coll., 2002), et le blocage des récepteurs à la cholécystokinine la facilite (Gracey et coll., 2000 ; Gracey et coll., 2002), ces effets ayant été attribués à une augmentation et une diminution, respectivement, de la transmission dopaminergique.

Sur la base de ces résultats, il peut être conclut que le **système dopaminergique mésolimbique est impliqué dans l'inhibition latente lors de la phase de conditionnement.**

Système sérotoninergique

Plusieurs résultats montrent qu'une diminution de la transmission sérotoninergique supprime l'inhibition latente. Des effets délétères sur l'inhibition latente ont ainsi été décrits consécutivement à une diminution de la transmission sérotoninergique induite par l'injection systémique d'un inhibiteur de la synthèse de sérotonine (la para-Chlorophenylalanine, pCPA ; Solomon et coll., 1978), par des lésions électrolytiques du raphé médian (Asin et coll., 1980 ; Solomon et coll., 1980), et par des lésions par injection de la neurotoxine 5,7-dihydroxytryptamine (5,7-DHT) dans les noyaux médian et dorsal du raphé (Lorden et coll., 1983) ou uniquement dans le raphé médian (Loskutova et coll., 1990), mais pas par des lésions électrolytiques du raphé dorsal (Solomon et coll., 1980). Ces différents travaux, notamment l'implication préférentielle du noyau médian du raphé, suggèrent une implication de l'activité sérotoninergique mésolimbique dans l'inhibition latente. En accord avec cette

hypothèse, une suppression d'inhibition latente a été observée suite à des lésions par l'injection de 5,7-DHT dans la fimbria-fornix (Cassaday et coll., 1993b) ou dans le noyau accumbens (Loskutova, 2001). Il faut cependant noter qu'une lésion par l'injection de 5,7-DHT dans les ventricules latéraux, conduisant à une diminution de plus de 85% du niveau de sérotonine dans l'hippocampe, s'est avérée sans effet sur l'inhibition latente (De Oliveira et coll., 1999).

D'autres études soutiennent l'hypothèse d'une implication de la sérotonine dans l'inhibition latente. Ainsi, Loskutova (Loskutova, 2001) a montré que la préexposition au stimulus conditionnel (un contexte) augmentait les niveaux de sérotonine et de son métabolite, l'acide 5-hydroxyindolacétique (5-HIAA), dans le noyau accumbens. De même, des modifications de l'activité de l'enzyme de dégradation de la sérotonine, la monoamine oxydase (MAO), ont été observées dans le striatum et l'amygdale, mais pas dans l'hippocampe, en relation avec la présentation répétée du stimulus conditionnel (Molodtsova, 2003). Enfin, une augmentation de l'activité sérotoninergique par l'administration de fluoxétine, un inhibiteur de la recapture de sérotonine, permet de potentialiser l'inhibition latente (Jakob et Rochford, 1995).

Au vu de la diversité des sous types de récepteurs à la sérotonine (pour revue voir Barnes et Sharp, 1999), leur rôle dans le contrôle exercé par le système sérotoninergique sur l'inhibition latente reste à être élucidé, d'autant plus que les modifications observées consécutivement à une action sur ces récepteurs découlent souvent d'une interaction avec d'autres systèmes de neurotransmission. Néanmoins, l'implication de quelques récepteurs sérotoninergiques dans l'inhibition latente a pu être mise en évidence, notamment celle des récepteurs 5-HT_2, 5-HT_{1a} et 5-HT_3. En accord avec l'idée qu'une diminution de l'activité sérotoninergique conduise à la suppression de l'inhibition latente, le blocage des récepteurs 5-HT_2 par la ritansérine supprime l'inhibition latente (Cassaday et coll., 1993a) et cet effet dépend d'une action lors de la phase de préexposition (Shadach et coll., 2000). Il faut cependant noter que cet effet peut également être obtenu consécutivement à la stimulation de ces récepteurs lors de la préexposition (Hitchcock et coll., 1997 ; McGregor et Luscombe, 1994). Ceci semble d'autant plus surprenant qu'un autre antagoniste des récepteurs 5-HT_2, le MDL100907, permet de compenser le déficit d'inhibition latente induit par l'amphétamine (Moser et coll., 1996) ou par la stimulation des récepteurs 5-HT_2 (Hitchcock et coll., 1997). Ces effets apparemment contradictoires pourraient dépendre d'une action différentielle de ces composés sur les récepteurs 5-HT_{2a} ou 5-HT_{2c}. Enfin, concernant les récepteurs 5-HT_3 et 5-

HT_{1a}, plusieurs équipes (Killcross et coll., 1997 ; Moran et Moser, 1992) ont montré que le blocage de ces derniers ($5HT_3$ et $5HT_{1a}$) potentialisait l'inhibition latente.

Dans l'ensemble, ces résultats, s'ils soulignent la complexité du système sérotoninergique, permettent néanmoins de conclure quant **à l'existence d'une implication privilégiée du système sérotoninergique mésolimbique dans l'inhibition latente lors de la phase de préexposition**.

Système glutamatergique

Plusieurs antagonistes des récepteurs au NMDA ont été testés et ce, selon plusieurs modes d'administration. Ainsi, l'administration de phencyclidine (PCP) avant les phases de préexposition et de conditionnement ne supprime (Turgeon et coll., 1998 ; Weiner et Feldon, 1992) ni ne potentialise l'inhibition latente (Turgeon et coll., 1998). Par contre, l'administration de kétamine (mais également de PCP si l'on inspecte plus précisément la figure 1 de Weiner et Feldon, 1992) avant la phase de préexposition seule entraîne un déficit d'inhibition latente (Aguado et coll., 1994a ; Gallo et coll., 1998), mais ce déficit ne s'observe plus si les composés sont administrés avant chacune des phases expérimentales suggérant un effet de dépendance d'état ("*state-dependency*" ; Aguado et coll., 1994a ; Weiner et Feldon, 1992). Par contre, en utilisant une administration précoce de PCP, 20 heures avant chacune des phases expérimentales, Turgeon et collaborateurs (Turgeon et coll., 1998) ont constaté un déficit d'inhibition latente. Dans la mesure où ces mêmes auteurs (Turgeon et coll., 2000) ont pu reproduire cet effet avec un agoniste des récepteurs sigma, mais pas avec un autre antagoniste des récepteurs au NMDA, le MK 801, l'effet précédent a été attribué à l'action du PCP sur les récepteurs sigma. Enfin, un déficit d'inhibition latente a été décrit suite à un traitement continu de 5 jours avec de la kétamine (Becker et coll., 2003) et du PCP (Schroeder et coll., 1998).

L'inconsistance de ces données **ne permet pas de conclure quant à l'implication du système glutamatergique dans l'inhibition latente**.

Système cholinergique

Il existe actuellement peu d'études sur le système cholinergique, ces dernières s'étant focalisées essentiellement sur les deux grands systèmes cholinergiques de projection de la base du cerveau antérieur : le système basalo-cortical et le système septo-hippocampique. Le premier système, dont les neurones sont situés dans le noyau basal magnocellulaire, ne semble pas être impliqué dans l'inhibition latente comme l'indique l'absence d'effets d'une part de lésions excitotoxiques de ce noyau en dépit d'une forte réduction de l'activité cholinergique au niveau du néocortex et de l'amygdale (Rochford et coll., 1996b ; Schauz et Koch, 1999) et d'autre part de lésions sélectives des neurones basalo-corticaux obtenue par l'injection de la neurotoxine 192 IgG-saporine dans le noyau basal magnocellulaire (Chiba et coll., 1995). Les données concernant le deuxième système restent controversées puisque des lésions par injection de la neurotoxine 192 IgG-saporine dans le complexe septum médian / bras vertical de la bande diagonal de Broca, conduisant à une forte diminution de l'activité cholinergique au niveau de l'hippocampe, ont été décrites comme supprimant l'inhibition latente (Baxter et coll., 1997) ou ne l'affectant pas (Dougherty et coll., 1996).

L'administration de nicotine comme agoniste cholinergique a produit des résultats complexes, conduisant à une suppression ou une augmentation de l'inhibition latente en fonction de la durée du stimulus de préexpostion (Rochford et coll., 1996a). Par ailleurs, le déficit d'inhibition latente induit par la nicotine a été attribué à une augmentation de l'activité dopaminergique au sein du noyau accumbens (Joseph et coll., 1993). Quant aux récepteurs muscariniques, ils ne sembleraient pas être impliqués (voir Weiner, 1990).

Ces quelques études **ne semblent donc pas soutenir une implication du système cholinergique dans l'inhibition latente**.

Structures cérébrales

Noyau accumbens

Les études relatives à l'implication du noyau accumbens dans l'inhibition latente sont directement en rapport avec celles impliquant la voie dopaminergique méso-accumbens dans ce phénomène. Cependant, la première étude qui ait fait état d'un déficit d'inhibition latente suite à l'infusion intra-accumbens d'amphétamine (Solomon et Staton, 1982), ne fut d'abord pas répliquée (Killcross et Robbins, 1993), puis remise en cause par l'étude de Konstandi et Kafetzopoulos (Konstandi et Kafetzopoulos, 1993). Ces derniers ont en effet montré que des lésions du noyau accumbens ne bloquaient pas le déficit d'inhibition latente induit par l'amphétamine, contrairement à celles du striatum dorsal. De plus, ces auteurs n'ont également pas constaté de suppression d'inhibition latente sous solvant chez les animaux qui avaient subi une lésion du noyau accumbens (Konstandi et Kafetzopoulos, 1993). Ce n'est que par la suite que Tai et collaborateurs (Tai et coll., 1995) ont montré que l'inhibition latente pouvait être supprimée aussi bien par des lésions électrolytiques que par des lésions excitotoxiques du noyau accumbens. Devant l'inconsistance de ces résultats, et l'accumulation de données concernant des différences fonctionnelles entre la partie *shell* et la partie *core* du noyau accumbens, Weiner et collaborateurs (Weiner et coll., 1996) ont étudié les effets de lésions sélectives de chacune de ces deux composantes du noyau accumbens. Alors que la lésion électrolytique de la partie *core* du noyau accumbens s'est avérée sans effet sur l'inhibition latente, celle de la partie *shell* supprime l'inhibition latente, en accord avec le résultat de Tai et collaborateurs (Tai et coll., 1995). Ce résultat, reproduit avec des lésions excitotoxiques (Jongen-Relo et coll., 2002), a permis d'établir que seule la partie *shell* du noyau accumbens était impliquée dans l'inhibition latente, la partie *core* ne l'étant pas. Néanmoins, Weiner et collaborateurs (Weiner et coll., 1999) ont montré que contrairement à une lésion de la partie *shell* seule, une lésion complète du noyau accumbens (comprenant à la fois le *shell* et le *core*) n'entraîne pas de déficit. Pour rendre compte de ce résultat (permettant de comprendre le résultat négatif de Konstandi et Kafetzopoulos, 1993), ces auteurs ont proposé que des lésions de la partie *core* du noyau accumbens rendraient impossible toute suppression de l'inhibition latente. D'autres résultats (cités dans Weiner, 2003, mais non publiés à ce jour) confortent cette idée, puisque des lésions de la partie *core* du noyau accumbens empêchent la suppression d'inhibition latente induite par un changement de contexte entre la phase de

préexposition et la phase de conditionnement, mais également la suppression produite par une augmentation de l'impact du conditionnement.

Plusieurs autres données viennent confirmer l'implication du noyau accumbens dans l'inhibition latente tout en insistant sur l'importance de l'activité dopaminergique au sein de ce noyau. Premièrement, les effets délétères de l'injection systémique d'amphétamine sur l'inhibition latente ont été attribués à son action sur la voie mésolimbique (voir précédemment), tout comme les effets délétères de l'injection systémique de nicotine (Joseph et coll., 1993). Deuxièmement, une lésion à la 6-OHDA du noyau accumbens, entraînant une perte de plus de 75% de la dopamine dans cette structure, facilite l'inhibition latente (Joseph et coll., 2000). Troisièmement, l'infusion d'halopéridol directement dans le noyau accumbens permet de reproduire la facilitation d'inhibition latente observée suite à une injection systémique (Joseph et coll., 2000), et permet également de compenser les effets délétères de l'amphétamine (Joseph et coll., 2000). Enfin, l'infusion intra-accumbens d'amphétamine permet de supprimer l'inhibition latente dans la mesure où cette infusion est précédée d'une première injection systémique 24 heures avant (Joseph et coll., 2000). Il est d'ailleurs important de noter que tous ces effets sont obtenus lors d'une action au cours de la phase de conditionnement, confirmant le rôle important exercé par la dopamine lors de cette phase.

D'autres arguments permettent de mettre en relation l'activité dopaminergique au sein du noyau accumbens d'une part et l'inhibition latente d'autre part. Par exemple, une étude de microdialyse (Young et coll., 1993) a montré que lors de la phase de conditionnement, la présentation conjointe d'un choc électrique et d'un son, entraînait une augmentation du niveau extracellulaire de dopamine dans le noyau accumbens (celle-ci étant supérieure à celle induite par la présentation d'un choc seul) chez des animaux n'ayant pas été préexposés au son, mais pas chez les animaux préexposés. De même, dans la même étude, ces auteurs ont montré que lors de la phase de test, la présentation du son (conditionné) ne produisait d'augmentation du niveau de dopamine que chez les animaux n'ayant pas été préexposés au son. Plus récemment, Murphy et collaborateurs (Murphy et coll., 2000) ont montré que cette suppression de l'augmentation de dopamine lors de la phase de test chez les animaux préexposés se retrouvait dans la partie *shell* du noyau accumbens, mais pas dans la partie *core*. Ce résultat (du moins pour le *shell*) a été confirmé par la suite par Jeanblanc et collaborateurs (Jeanblanc et coll., 2002) en utilisant une autre situation expérimentale.

L'ensemble de ces données permet donc de **conclure que le noyau accumbens, et plus particulièrement l'activité dopaminergique au sein de ce noyau, est impliqué dans l'inhibition latente lors de la phase de conditionnement**. Par ailleurs, ces résultats soulignent l'implication différentielle des parties *shell* et *core* du noyau accumbens dans ce phénomène.

Formation hippocampique

Les études sur l'implication de la formation hippocampique dans l'inhibition latente, initiées sur la base de modèles attribuant un rôle à l'hippocampe dans des processus attentionels (voir Ackil et coll., 1969), ont rapidement été motivées par la description d'anomalies au niveau de cette région chez les patients schizophrènes (voir Harrison, 1999).

De nombreuses études ont porté sur l'implication de la formation hippocampique dans l'inhibition latente, conduisant souvent à des résultats contradictoires, notamment quant au rôle de l'hippocampe (pour revue, voir Buhusi et coll., 1998). Bien que les premières données lésionnelles (avec des lésions électrolytiques ou par aspiration) aient clairement établit que l'hippocampe jouait un rôle dans l'inhibition latente (Ackil et coll., 1969 ; Kaye et Pearce, 1987 ; McFarland et coll., 1978), cette implication fut remise en question par de nombreux résultats négatifs obtenus ultérieurement avec des lésions excitotoxiques plus sélectives (Coutureau et coll., 1999 ; Honey et Good, 1993 ; Shohamy et coll., 2000, mais Han et coll., 1995 ; Oswald et coll., 2002 pour une suppression ou Reilly et coll., 1993 pour une facilitation). Ces différents résultats laissent supposer que la lésion de l'hippocampe ne supprimerait pas l'inhibition latente. D'autres études ont montré cependant que l'hippocampe interviendrait dans l'inhibition latente mais que si sa lésion ne la supprimait pas, elle en supprimait la spécificité contextuelle (Holt et Maren, 1999 ; Honey et Good, 1993). Par ailleurs, il a récemment été montré que bien que la lésion de l'hippocampe ventral soit sans effet sur l'inhibition latente, la stimulation pharmacologique de cette région supprime l'inhibition latente (Pouzet et coll., 2004).

Contrairement à l'hippocampe, la région rétrohippocampique qui comprend le subiculum et le cortex entorhinal serait nécessaire pour l'expression de l'inhibition latente (Yee et coll., 1995a ; Yee et coll., 1997). Des études sur l'implication respective du subiculum et du cortex entorhinal ont montré que des lésions du subiculum n'affectaient pas l'inhibition latente (Coutureau et coll., 1999 ; Oswald et coll., 2002), alors que celles du cortex entorhinal

supprimaient l'inhibition latente (Coutureau et coll., 1999 ; Coutureau et coll., 2000b ; Oswald et coll., 2002 ; Shohamy et coll., 2000). Enfin, il semblerait que ce soit une voie entorhino-accumbens n'empruntant pas la fimbria-fornix qui serait critique dans l'inhibition latente puisque des lésions de la fimbria-fornix n'entraînent aucun déficit (Pouzet et coll., 1999 ; Weiner et coll., 1998, mais Nicolle et coll., 1989).

Ces différents résultats permettent de conclure quant à **l'implication du cortex entorhinal dans l'inhibition latente** et quant à l'implication de l'hippocampe dans la spécificité contextuelle de cette dernière.

Cortex préfrontal

Le constat d'anomalies au niveau du cortex préfrontal, aussi bien structurales (Gur et coll., 2000 ; Pierri et coll., 2001) que fonctionnelles (pour revue, voir Manoach, 2003), ces dernières étant d'ailleurs à l'origine de l'hypothèse d'une "hypofrontalité" dans la schizophrénie, a fortement contribué à la recherche d'une implication potentielle du cortex préfrontal dans l'inhibition latente.

Cependant, de larges lésions électrolytiques du cortex préfrontal médian se sont avérées sans effet sur l'inhibition latente (Joel et coll., 1997), de même que des lésions électrolytiques du cortex cingulaire antérieur dorsal ou du cortex infralimbique (Joel et coll., 1997). Cette absence d'effet a été constatée également après des lésions excitotoxiques en utilisant soit du NMDA, soit de l'acide iboténique comme excitotoxine (Lacroix et coll., 1998). Des modifications de l'activité dopaminergique au sein du cortex préfrontal se sont avérées tout aussi inefficaces pour affecter l'inhibition latente, que se soit suite à l'infusion d'amphétamine (Lacroix et coll., 2000a), d'apomorphine (Broersen et coll., 1996 ; Broersen et coll., 1999) ou d'antagonistes des récepteurs à la dopamine (Broersen et coll., 1996 ; Ellenbroek et coll., 1996 ; Lacroix et coll., 2000a).

Etant donné le lien fonctionnel entre le cortex préfrontal, ou plus précisément l'activité dopaminergique au sein du cortex préfrontal, et l'activité dopaminergique au sein du noyau accumbens, ces deux dernières étant inversement proportionnelles (pour revue, voir Tzschentke et Schmidt, 2000), ces résultats sont particulièrement surprenants. Ceci a conduit Lacroix et collaborateurs (Lacroix et coll., 1998) à proposer que des manipulations au sein du cortex préfrontal affecteraient le fonctionnement de la partie *core* du noyau accumbens, et de

fait empêcheraient toute suppression d'inhibition latente. Cette hypothèse est à mettre en parallèle avec le rétablissement d'inhibition latente observée chez les schizophrènes en phase chronique puisque le syndrome frontal serait associé principalement avec l'état chronique de la maladie (voir Gracia et coll., 1997, mais Andreasen et coll., 1997).

A l'heure actuelle, **aucun résultat comportemental ne suggère une quelconque implication du cortex préfrontal dans l'inhibition latente**.

Amygdale

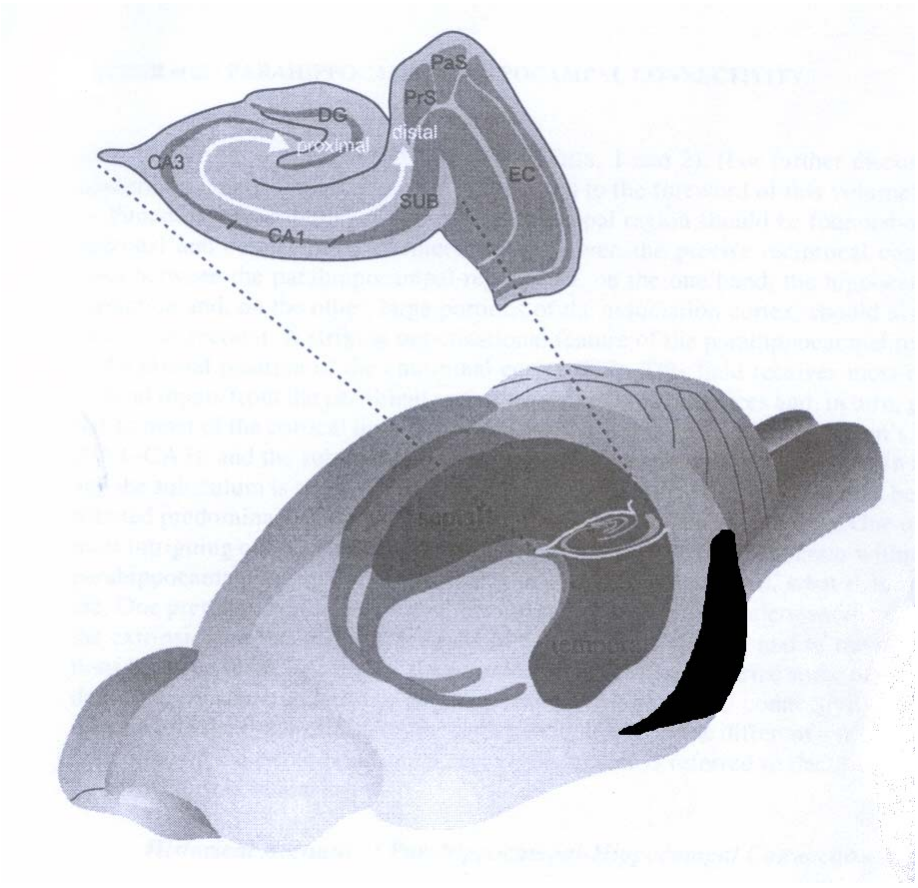
Bien qu'en relation étroite avec les structures cérébrales précédement évoquées, peu d'auteurs se sont intéressés à l'implication potentielle de l'amygdale dans l'inhibition latente, probablement en raison du rôle majeur joué par cette structure dans les processus de peur conditionnée (pour revue, voir Maren, 2001). Ainsi, des lésions excitotoxiques du complexe basolatéral de l'amygdale produisent un déficit d'inhibition latente dans une situation de conditionnement appétitif (Coutureau et coll., 2001), alors que des lésions électrolytiques de ce même complexe se sont avérées inefficaces dans une situation de réponse émotionnelle conditionnée (Weiner et coll., 1995). Cette divergence de résultats a été discutée sur la base de lésions et de situations expérimentales différentes, mais n'en demeure pas moins problématique quant au rôle joué par cette structure. Il a également été montré que le blocage des récepteurs NMDA par l'infusion d'AP-5 dans le complexe basolatéral de l'amygdale avant la phase de préexposition produit un déficit d'inhibition latente dans une situation de peur conditionnée (Schauz et Koch, 2000). Ce dernier résultat est particulièrement important puisqu'il suggère l'implication de l'amygdale basolatérale dans un mécanisme réstreint à la phase de préexposition. Concernant le noyau central de l'amygdale, il ne semble pas être impliqué dans l'inhibition latente, tout au moins dans une situation de conditionnement appétitif (Holland et Gallagher, 1993).

Le peu de données disponibles et leurs contradictions ne permettent pas de conclure de façon définitive quant au rôle de l'amygdale dans l'inhibition latente.

ORGANISATION ANATOMIQUE DU CORTEX ENTORHINAL CHEZ LE RAT

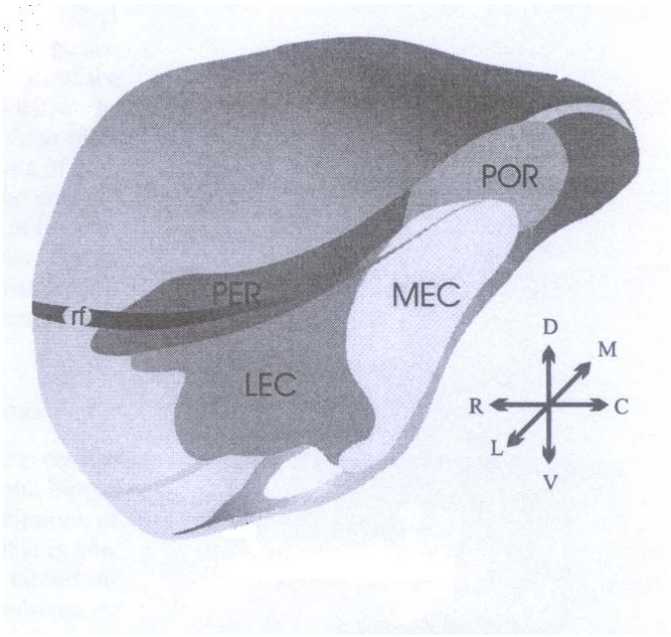
Localisation et sous divisions

Au niveau rostral, le cortex entorhinal est bordé latéralement par le cortex piriforme, et au niveau médian, par le cortex périamygdaloïde et le noyau cortical postérieur de l'amygdale. Au niveau latérocaudal, le cortex entorhinal est bordé par les cortex périrhinal et postrhinal qui s'enroulent autour de lui. Au niveau médian, le cortex entorhinal est bordé dans toute son étendue rostro-caudale, excepté dans sa portion la plus rostrale, par le parasubiculum. Dans la partie la plus caudale du manteau cortical, la position du cortex entorhinal est ventrale, celui-ci formant la convexité ventro-postérieure de chaque hémisphère (Insausti et coll., 1997).



Représentation tridimensionnelle d'une vue antérolatérale de cerveau de Rat présentant la localisation de structures de la formation hippocampique, avec en noir le cortex entorhinal (adapté de Witter et coll., 2000b). Abréviations : CA1, champ CA1 de l'hippocampe ; CA3, champ CA3 de l'hippocampe ; DG, gyrus denté ; EC, cortex entorhinal ; PaS, parasubiculum ; PrS, présubiculum ; SUB, subiculum.

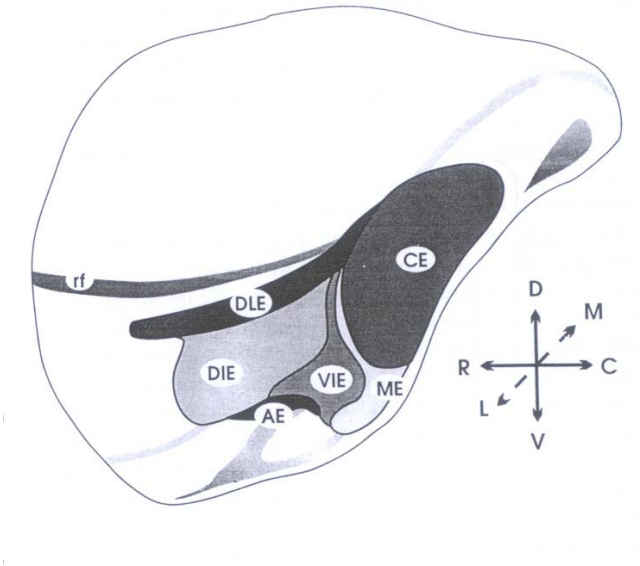
Basés sur des critères cytoarchitectoniques, le cortex entorhinal est généralement divisé en deux composantes principales : le cortex entorhinal latéral (CEL) et le cortex entorhinal médian (CEM). Le CEL occupe une position rostrolatérale par rapport au CEM et sa bordure dorsolatérale s'étend au plus près de la scissure rhinale. Sur toute son étendue rostrocaudale, le CEL est limité au niveau dorsal par les cortex périrhinal et postrhinal. Au niveau rostral, le CEL se situe en position dorsolatérale par rapport au cortex piriforme. Au niveau mi-rostrocaudal, il se situe en position dorsale par rapport au cortex périamygdaloide. Au niveau caudal, il se situe entre les composantes médiane et latérale du CEM. Le CEM occupe une position caudomédiane au sein du cortex entorhinal. Au niveau rostral, il est limité au niveau latéral par la portion ventrale du CEL et au niveau médian par le parasubiculum. Au niveau caudal, le CEM occupe approximativement le tiers ventral du pôle occipital et est limité au niveau dorsolatéral par le cortex postrhinal et au niveau dorsomédian par le parasubiculum (Dolorfo et Amaral, 1998).



Représentation tridimensionnelle d'une vue postérolatérale de l'hémisphère gauche d'un cerveau de Rat présentant la localisation des composantes médiane et latérale du cortex entorhinal (adapté de Witter et coll., 2000b). Abréviations : LEC, cortex entorhinal latéral ; MEC, cortex entorhinal médian ; PER, cortex périrhinal ; POR, cortex postrhinal ; rf, scissure rhinale.

Bien que cette subdivision du cortex entorhinal en deux principales sous-composantes soit actuellement la plus usitée, plusieurs auteurs ont proposé de subdiviser davantage le cortex entorhinal. Par exemple, l'aire de transition entre ces deux principales subdivisions a été

proposée comme troisième subdivision, à savoir le cortex entorhinal intermédiaire (CEI ; Wyss, 1981). Une autre nomenclature, plus complexe, a été proposée par Insausti et collaborateurs (Insausti et coll., 1997), ces derniers divisant le cortex entorhinal en six champs distincts : le champ entorhinal caudal (EC), le champ entorhinal médian (ME), le champ entorhinal intermédiaire ventral (EIV), le champ entorhinal intermédiaire dorsal (EID), le champ entorhinal latéral dorsal (ELD) et le champ transitionnel amygdalo-entorhinal (AE).

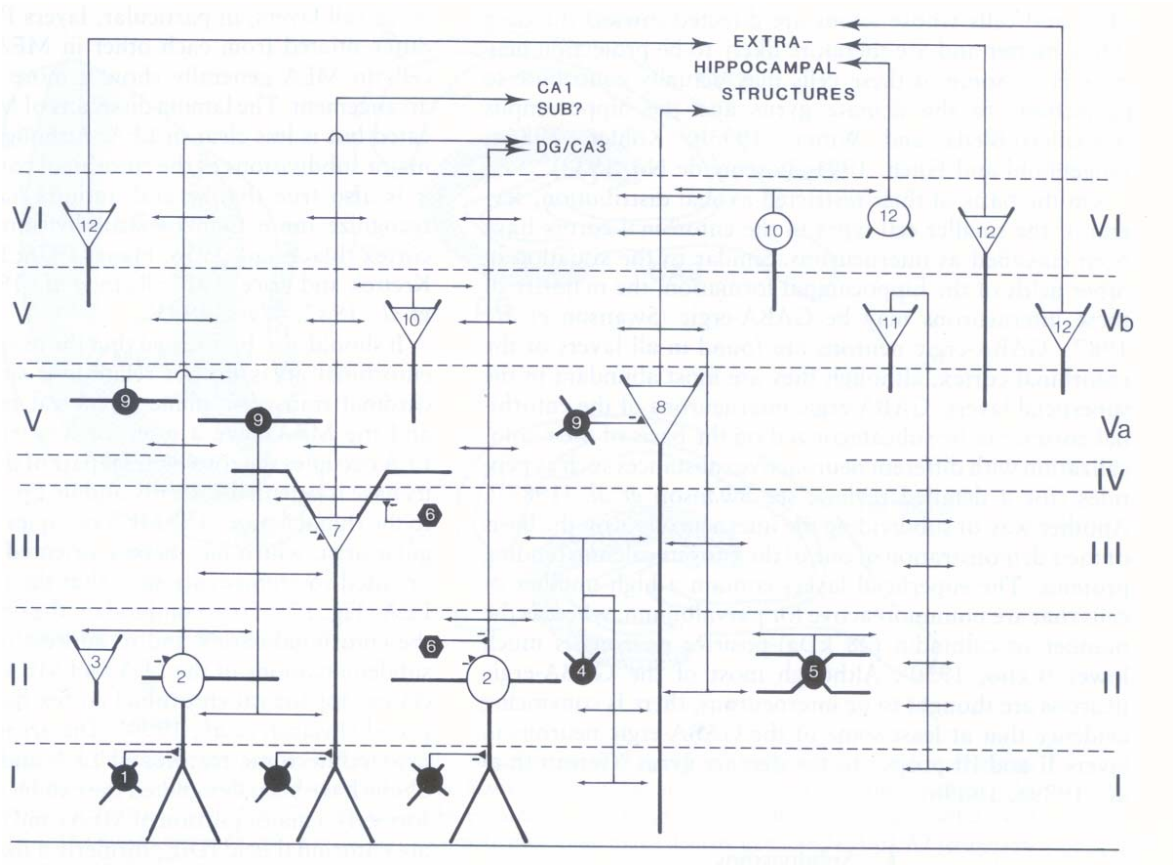


Représentation tridimensionnelle d'une vue postérolatérale de l'hémisphère gauche d'un cerveau de Rat présentant la localisation des six champs du cortex entorhinal (adapté de Insausti et coll., 1997). Abréviations : AE, champ transitionnel amygdalo-entorhinal ; EC, champ entorhinal caudal ; EID, champ entorhinal intermédiaire dorsal ; EIV, champ entorhinal intermédiaire ventral ; ELD, champ entorhinal latéral dorsal ; ME, champ entorhinal médian ; rf, scissure rhinale.

Lamination et types cellulaires

Le cortex entorhinal est divisé en six couches (périallocortex), dont quatre sont des couches cellulaires et deux des couches plexiformes (Amaral et Witter, 1995 ; Insausti et coll., 1997). La **couche I** est la couche plexiforme la plus superficielle. Elle est riche en fibres orientées transversalement, mais ne contient que très peu de corps cellulaires de neurones. Ces derniers (1 ; voir figure ci-après), largement dispersés, sont des cellules étoilées et horizontales dont le neurotransmetteur est l'acide γ-amino butyrique (GABA). La **couche II** contient principalement des cellules étoilées (2) de taille moyenne à grande, généralement groupées en amas (îlots de cellules). Au niveau caudal, ces îlots fusionnent et donnent à la

couche un aspect plus continu. Cette couche contient également des cellules pyramidales (3), multipolaires (4), horizontales (5) et une classe de cellules axo-axoniques (6). La **couche III** contient des cellules de formes et de tailles variées, lui donnant ainsi un aspect hétérogène. Les neurones pyramidaux (7) prédominent, mais on y trouve également des cellules multipolaires, étoilées, fusiformes, horizontales et bipolaires. La **couche IV** ou *lamina discecans* est dépourvue de corps cellulaires de neurones. La **couche V** est sous divisée en couche Va et Vb. La couche Va forme une large bande de neurones pyramidaux (8), mais contient également des petits neurones comme des cellules horizontales, étoilées ou multipolaires (9). La couche Vb contient, quant à elle, essentiellement des neurones pyramidaux (10, 11 et 12) de plus petite taille que ceux de la couche Va. La **couche VI** contient une population très hétérogène de cellules quant à leur taille et à leur forme, et dont la densité diminue en s'approchant des limites de la substance blanche sous-jacente



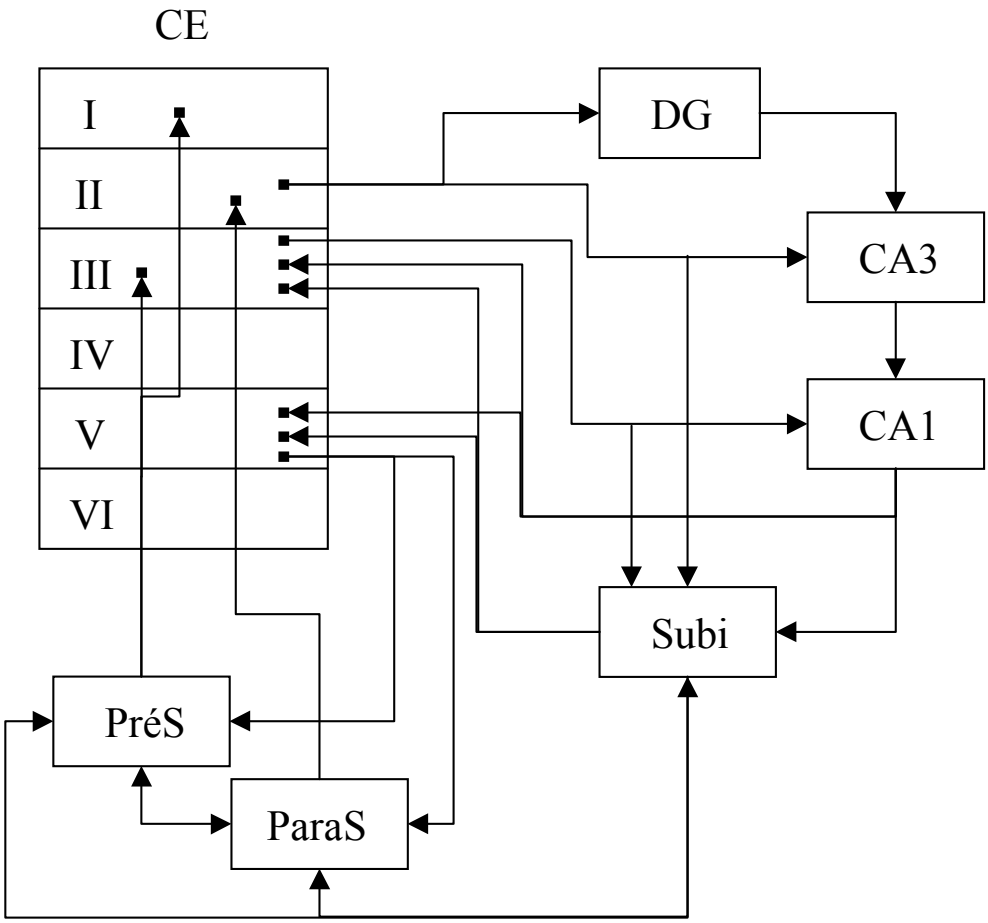
Représentation schématique de la répartition des types cellulaires majeurs dans les différentes couches du cortex entorhinal (d'après Amaral et Witter, 1995). Abréviations : CA1, champ CA1 de l'hippocampe ; CA3, champ CA3 de l'hippocampe ; DG, gyrus denté ; SUB, subiculum.

En terme de connexions avec le reste de l'encéphale, on distingue généralement les couches superficielles (I à III) des couches profondes (V et VI), celles-ci étant séparées par la *lamina discecans*. Les couches superficielles correspondent aux couches d'entrées (projection vers le cortex entorhinal) alors que les couches profondes correspondent aux couches de sorties, bien que cette distinction soit une simplification (Sewards et Sewards, 2003 ; Witter et coll., 2000a).

Principales connexions entre le cortex entorhinal et les autres composantes de la formation hippocampique[1]

Le cortex entorhinal présente une position pivot puisqu'il constitue la principale entrée corticale de la formation hippocampique, recevant la majeure partie de ces afférences des cortex périrhinal et postrhinal. *In fine*, les efférences de l'hippocampe originaires de CA1 et du subiculum sont relayées par le cortex entorhinal d'où elles sont redistribuées principalement vers les cortex périrhinal et postrhinal. Le cortex entorhinal est donc à l'origine de la plupart des projections corticales vers le gyrus denté, CA1-CA3 et le subiculum. La connectivité entre les différents champs hippocampiques est bien connue sous le terme de "circuit trisynaptique", ce circuit incluant les projections du cortex entorhinal vers le gyrus denté par la "voie perforante", puis les projections du gyrus denté vers le champ CA3 par les "fibres moussues" et finalement les "collatérales de Schaffer" "ciblant" les neurones du champ CA1.

[1] Selon Amaral et Witter (Amaral et Witter, 1995), la **formation hippocampique** regroupe le gyrus denté, les champs CA1-CA3, le subiculum, le pré- et le parasubiculum et le cortex entorhinal. C'est cette dénomination qui est utilisée dans ce chapitre. Néanmoins, il faut signaler que le terme "**région parahippocampique**" a récemment été proposé pour regrouper le pré- et le parasubiculum, les cortex périrhinal et postrhinal, mais également le cortex entorhinal, excluant de fait ce dernier de la "formation hippocampique" (Scharfman et coll., 2000).



Représentation schématique des principales connexions intrinsèques à la formation hippocampique. Abréviations : CA1, champ CA1 de l'hippocampe ; CA3, champ CA3 de l'hippocampe ; DG, gyrus denté ; CE, cortex entorhinal ; ParaS, parasubiculum ; PréS, présubiculum ; Subi, subiculum.

La voie perforante prend son origine dans les couches II et III du cortex entorhinal de telle sorte que les neurones de la couche II projettent vers le gyrus denté et le champ CA3 alors que ceux de la couche III projettent vers le champ CA1 et le subiculum. Des cellules de la couche II envoient aussi quelques collatérales vers le subiculum. Les neurones de la couche II du CEL envoient leurs axones vers le tiers externe de la couche moléculaire externe du gyrus denté et vers la *stratum lacunosum – moleculare* du champ CA3, alors que les axones des neurones de la couche II du CEM se terminent dans le tiers moyen de ces mêmes couches. Les efférences des couches III se terminent dans *la stratum lacunosum – moleculare* du champ CA1 et dans la couche moléculaire du subiculum, celles du CEL se terminant spécifiquement dans la partie distale du champ CA1 et la partie proximale du subiculum, et celles du CEM se terminant dans la partie proximale du champ CA1 et la partie distale du subiculum (Witter et coll., 2000b).

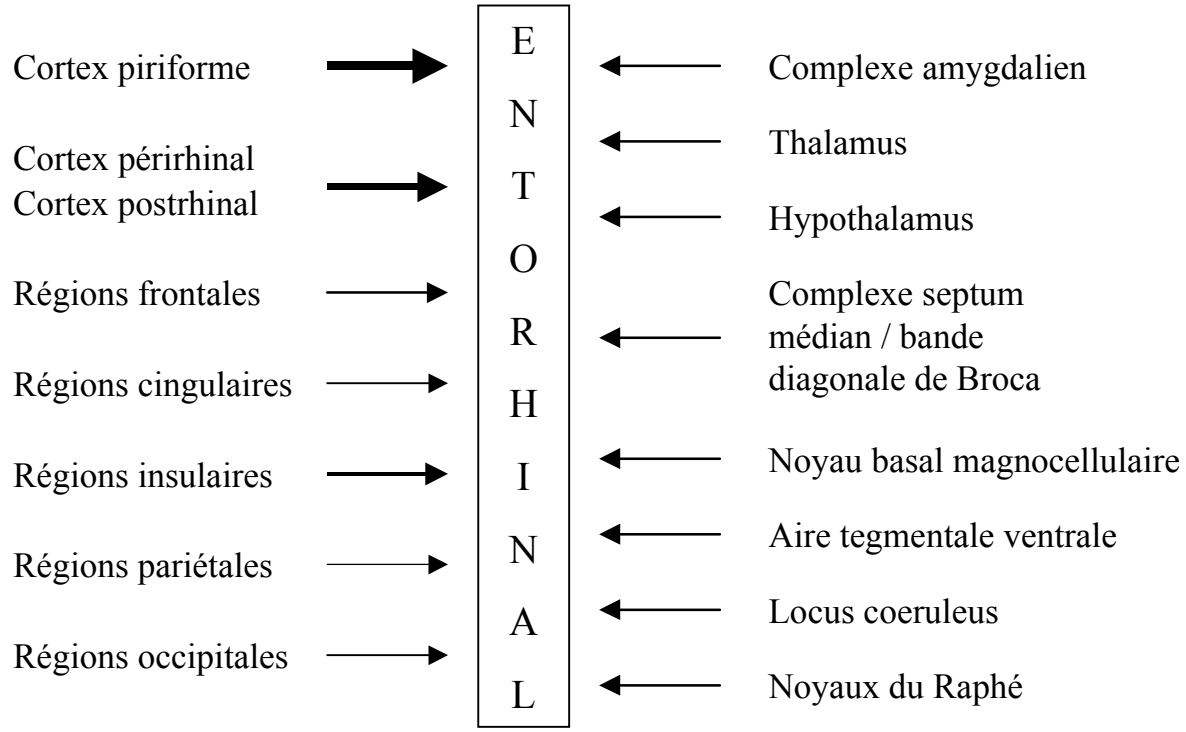
Les projections de l'hippocampe vers le cortex entorhinal prennent leur origine dans le champ CA1 et dans le subiculum et se terminent pour la plupart sous la *lamina dissecans* dans la couche V, des projections se terminant également dans des couches superficielles, principalement la couche III. La partie proximale du subiculum et la partie distale adjacente du champ CA1 se projettent préférentiellement vers le CEL, alors que la partie distale du subiculum et la partie proximale du champ CA1 se projettent préférentiellement vers le CEM (Witter et coll., 2000b).

Le cortex entorhinal est également en relation avec le présubiculum et le parasubiculum. Ainsi, le présubiculum se projette massivement vers le CEM, notamment vers les couches I et III, alors que le parasubiculum innerve préférentiellement la couche II du cortex entorhinal, aussi bien médian que latéral (Caballero-Bleda et Witter, 1993). Enfin, le cortex entorhinal envoie des afférences vers ces deux régions cérébrales (van Groen et Wyss, 1990).

Principales afférences au cortex entorhinal

Le cortex entorhinal reçoit des projections de nombreuses **régions corticales** (Burwell et Amaral, 1998a). La majeure partie (environ un tiers) des entrées corticales du cortex entorhinal est originaire de structures olfactives et notamment du cortex piriforme, ce dernier envoyant une quantité similaire de projections vers les composantes latérales et médianes du cortex entorhinal. Il faut également noter l'arrivée dans ces régions d'afférences en provenance des bulbes olfactifs et du noyau olfactif antérieur (Amaral et Witter, 1995). Une autre composante majeure (environ un quart) des entrées corticales du cortex entorhinal provient de régions temporales. Celles-ci regroupent le cortex périrhinal, le cortex postrhinal, le cortex d'association temporal ventral et le cortex d'association auditif. Le CEL reçoit une proportion plus importante, comparativement au CEM, de projections du cortex périrhinal, et une plus petite proportion des cortex d'association temporal ventral et postrhinal (Burwell et Amaral, 1998a ; Burwell et Amaral, 1998b). Le cortex entorhinal reçoit également un grand nombre (environ un dixième) de projections des régions frontales, telles que les aires motrices primaires et supplémentaires, les aires orbitales médiane, latérale, ventrale et ventrolatérale, le cortex prélimbique et le cortex infralimbique. L'ensemble de ces régions frontales se projette sur le CEL, alors que le CEM reçoit principalement des projections de l'aire motrice supplémentaire. D'autres afférences corticales proviennent des régions cingulaires (aires cingulaires antérieures dorsale et ventrale, mais également aire rétrospléniale agranulaire et

granulaire), insulaires (aires insulaires agranulaires dorsale, ventrale et postérieure, mais également aires gustatives et viscérales), pariétales (aires somatosensorielles primaires et supplémentaires, et région pariétale postérieure) et occipitales (cortex visuel primaire, cortex d'association visuel médian et latéral). Le CEL reçoit plus d'entrées des régions insulaires que n'en reçoit le CEM, ce dernier en recevant plus des régions cingulaires, pariétales et occipitales. L'ensemble de ces afférences corticales a été divisé en deux groupes selon qu'elles se terminent préférentiellement dans les couches superficielles ou profondes du cortex entorhinal (Amaral et Witter, 1995). Le premier groupe comprend les structures olfactives et temporales, le deuxième groupe comprenant les structures frontales, insulaires et cingulaires.



Représentation schématique des principales afférences corticales (à gauche) et sous corticales (à droite) au cortex entorhinal.

Le cortex entorhinal reçoit des projections de plusieurs **régions sous-corticales**, parmi lesquelles le complexe amygdalien occupe une place importante. Les projections les plus denses émanent des noyaux latéral, basal, basal accessoire, médian et cortical postérieur, et se terminent dans les couches III ou V du cortex entorhinal (Pitkanen et coll., 2000). On peut également noter des projections en provenance du cortex périamygdalien, de l'aire amygdalo-hippocampique et du noyau cortical antérieur. Le noyau latéral (divisions dorsolatérale, ventrolatérale et médiane) et le noyau basal accessoire (divisions magnocellulaire et parvicellulaire) innervent préférentiellement le CEL (Pikkarainen et coll., 1999). Le noyau

basal (divisions magnocellulaire, intermédiaire et parvicellulaire) innerve également le CEL, mais également le CEM (à partir de la partie caudomédiane de la division parvicellulaire). Le noyau cortical postérieur envoie des projections vers les deux divisions du cortex entorhinal, mais l'innervation la plus dense atteint le CEL (Kemppainen et coll., 2002). Le noyau médian (partie centrale) et le cortex périamygdalien envoient des projections vers le CEL. Le CEL reçoit également une faible innervation en provenance de l'aire amygdalo-hippocampique (Kemppainen et coll., 2002) et du noyau cortical antérieur (Pitkanen et coll., 2000).

Le cortex entorhinal reçoit également une innervation importante en provenance du thalamus (Amaral et Witter, 1995). Les principales entrées thalamiques sont originaires du noyau réuniens et du noyau medialis centralis. On observe une innervation en provenance des noyaux rhomboïde, paraventriculaire, et paraténial. Le noyau réuniens se projette vers le CEM et le CEL, alors que le noyau périventriculaire ne se projette que vers le CEL (Beckstead, 1978).

Le cortex entorhinal reçoit une innervation de l'hypothalamus, notamment du noyau supramammiliaire, du noyau tuberomammiliaire, de l'aire hypothalamique latérale (Amaral et Witter, 1995), mais également de l'aire préoptique, de l'aire hypothalamique antérieure et des noyaux ventromédian et dorsomédian (Calderazzo et coll., 1996).

Le complexe septum médian / bande diagonale de Broca (noyaux CH1 à CH3 selon la classification de Mesulam et coll., 1983) est à l'origine d'une forte innervation du cortex entorhinal (Amaral et Witter, 1995). La partie latérale du septum médian se projette préférentiellement vers le CEM, notamment vers les couches II, IV et V. A l'inverse, la partie médiane du septum médian projette préférentiellement vers le CEL, principalement vers les couches II et III (Gaykema et coll., 1990). Le bras horizontal de la bande verticale de Broca, mais également la partie caudale du bras vertical de la bande diagonale de Broca, innervent principalement le CEL (couches I, III et IV). Quant à la partie rostrale du bras vertical de la bande diagonale de Broca, elle se projette vers les deux divisions du cortex entorhinal (Gaykema et coll., 1990). L'aire préoptique magnocellulaire se projette vers le cortex entorhinal (Manns et coll., 2001). Le cortex entorhinal reçoit également des projections du noyau CH4, notamment en provenance du noyau basal magnocellulaire (Luiten et coll., 1987 ; Saper, 1984) et de la substance innominée (Manns et coll., 2001). Ces projections sont pour la plupart cholinergiques et GABAergiques en proportion équivalentes, mais une composante glutamatergique a également été mise en évidence (Manns et coll., 2001).

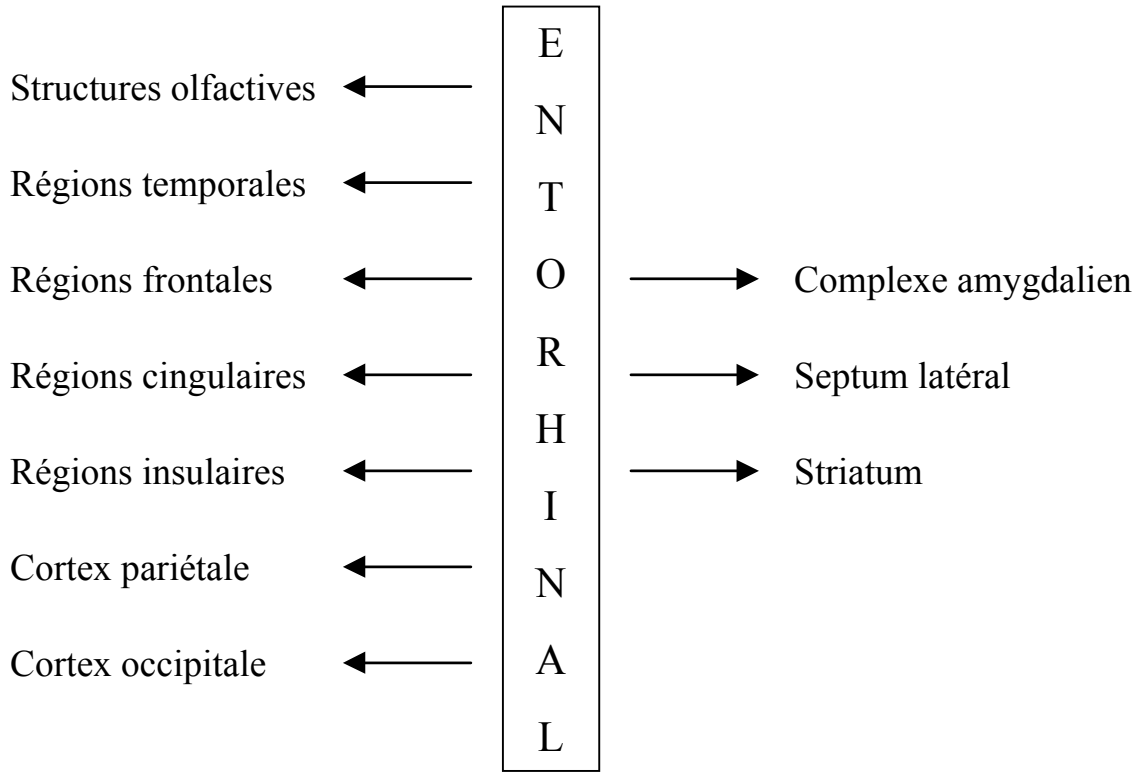
Le cortex entorhinal est innervé par l'aire tegmentale ventrale (VTA), mais reçoit également quelques rares projections en provenance du noyau rétrorubral et de la substance noire *pars compacta* (Swanson, 1982). La composante dopaminergique de cette projection, qui n'est que partielle, se projette de façon prédominante dans les couches II et III de la partie antérieure du cortex entorhinal (CEL), où elle forme des îlots. Au niveau postérieur, le cortex entorhinal est innervé de façon plus éparse (Baulac et coll., 1986 ; Fallon et coll., 1978).

Le cortex entorhinal est innervé par le locus cœruleus. Cette innervation noradrénergique s'étend à tout le cortex entorhinal et à toutes ses couches, notamment la couche I (Fallon et coll., 1978).

Le noyau dorsal du raphé, mais également le noyau central, fournissent une innervation sérotoninergique qui se termine de façon diffuse dans toutes les couches du cortex entorhinal, avec une prédominance pour les couches superficielles (Amaral et Witter, 1995).

Principales efférences du cortex entorhinal

Selon Swanson et Köhler (Swanson et Köhler, 1986), le cortex entorhinal semble innerver toutes les régions du manteau cortical. Une analyse plus fine menée par Insausti et collaborateurs (Insausti et coll., 1997) montre que tous les champs du cortex entorhinal ne participent pas de façon similaire à cette large innervation **corticale**. Pour simplifier cette description, nous avons regroupé les champs EC et EM, ces derniers pouvant être considérés comme formant le CEM ; les champs restants (EIV, EID, ELD et AE) constituant le CEL. Ainsi le CEM envoie des projections vers les structures olfactives (noyau olfactif antérieur, cortex piriforme), les régions temporales (cortex postrhinal (Burwell et Amaral, 1998b), cortex temporal, cortex périrhinal), les régions frontales (cortex infralimbique, cortex prélimbique, partie dorsale de la taenia tecta, cortex pédunculaire dorsal, cortex moteur), les régions cingulaires (cortex cingulaire, cortex rétrosplenial agranulaire et granulaire), le cortex insulaire agranulaire, le cortex pariétal et le cortex occipital. Quant au CEL, il se projette vers les structures olfactives (noyau olfactif antérieur, cortex piriforme et bulbes olfactifs), les régions temporales (cortex périrhinal, cortex postrhinal (Burwell et Amaral, 1998b), cortex temporal), les régions frontales (cortex infralimbique, cortex prélimbique, cortex frontal, cortex orbitofrontal, parties dorsale et ventrale de la taenia tecta, cortex pédunculaire dorsal, cortex moteur), le cortex cingulaire, les cortex insulaire agranulaire, granulaire et dysgranulaire, le cortex pariétal et le cortex occipital.



Représentation schématique des principales efférences du cortex entorhinal vers les régions corticales (à gauche) et les régions sous-corticales (à droite).

Le cortex entorhinal se projette aussi vers plusieurs **régions sous-corticales**. Ainsi le cortex entorhinal, et plus particulièrement le CEL, innerve plusieurs noyaux amygdaliens (McDonald et Mascagni, 1997 ; Pitkanen et coll., 2000). Ces projections se terminent massivement au niveau du noyau basal (divisions magnocellulaire et parvicellulaire), du noyau latéral (divisions ventrolatérale et médiane), du noyau basal accessoire (division parvicellulaire), des noyaux corticaux (postérieur et antérieur), du noyau central (divisions capsulaire et latérale), du noyau du tractus olfactif latéral, du noyau médian, de la portion intraamygdalienne du noyau du lit de la strie terminale et de l'aire amygdalo-hippocampique. Le cortex entorhinal envoie aussi un fort contingent de fibres vers le septum (Alonso et Kohler, 1984 ; Leranth et coll., 1999). Ces projections prennent leur origine dans le CEL et le CEM (principalement de la couche V, mais également de la couche II) et se terminent au niveau du septum latéral, notamment dans sa partie intermédiaire. Quelques projections atteignent le septum médian et le bras vertical de la bande diagonale de Broca. Le cortex entorhinal se projette aussi vers le striatum notamment vers sa partie ventrale, le noyau accumbens (Krayniak et coll., 1981). Les fibres en partance du CEL, mais également du

CEM, sont distribuées à travers le noyau accumbens dans ses parties *core*, *shell* et son pôle rostral (Totterdell et Meredith, 1997). Le CEM et le CEL innervent tous deux les bordures dorsale et médiane du noyau caudé-putamen.

Neuropathologie de la schizophrénie : focalisation sur le cortex entorhinal

Malgré les controverses qui entourent les découvertes concernant les bases structurelles de la schizophrénie, plusieurs faits semblent être établis (pour revue, voir Harrison, 1999). La découverte principale concerne l'hypertrophie des ventricules (latéral et troisième) et la perte de tissu cérébral. Les plus fortes réductions tissulaires ont été signalées au niveau des structures du lobe temporal médian (hippocampe, gyrus parahippocampique, amygdale), mais certaines concernent également d'autres régions, comme le cortex préfrontal (Gur et coll., 2000) ou le thalamus (Buchsbaum et coll., 1996). La plupart des études portant sur les changements structuraux au sein des régions du lobe temporal médian se sont initialement focalisées sur l'hippocampe, et de ce fait, moins d'attention a été portée au cortex entorhinal. Cependant, suite à l'observation de plusieurs anomalies cytoarchitecturales et laminaires au niveau du cortex entorhinal (Jakob et Beckmann, 1986), ce dernier a connu un regain d'intérêt. Ainsi, le cortex entorhinal semble avoir un plus petit volume chez les patients schizophrènes (Joyal et coll., 2002, mais Nasrallah et coll., 1997). Plusieurs études ont de fait décrit une diminution de la densité neuronale au sein de ce cortex (Arnold et coll., 1991 ; Jakob et Beckmann, 1986, mais Falkai et coll., 1988), cette dernière ne résultant pas d'une neurodégénérescence (pour revue, voir Arnold, 2000), comme le suggère l'absence de prolifération astrocytaire au niveau du cortex entorhinal de patients schizophrènes (Damadzic et coll., 2001 ; Falkai et coll., 1999). Il est également intéressant de noter que l'expression de plusieurs protéines synaptiques est altérée dans la schizophrénie (Hemby et coll., 2002). Depuis la première description d'anomalies cytoarchitecturales dans le cortex entorhinal (notamment au niveau des couches II et III ; Jakob et Beckmann, 1986), de nombreuses études ont soit confirmé (Arnold et coll., 1991 ; Arnold et coll., 1997 ; Falkai et coll., 2000) soit infirmé (Akil et Lewis, 1997 ; Bernstein et coll., 1998 ; Krimer et coll., 1997) l'existence de telles anomalies, faisant de ce résultat l'un des plus controversé dans le domaine (pour revue, voir Arnold, 2000).

D'autres atteintes au niveau du cortex entorhinal ont par ailleurs été décrites, notamment en ce qui concerne divers systèmes de neurotransmission. Ainsi, le nombre d'axones

immunoréactifs pour la tyrosine hydroxylase est diminué dans les couches III et VI du cortex entorhinal rostral (Akil et coll., 2000). Par ailleurs, les fibres glutamatergiques verticales de petit calibre sont plus nombreuses dans les couches superficielles (Longson et coll., 1996). Bachus et collaborateurs (Bachus et coll., 1997) ont également décrit une diminution de l'ARNm de la cholécystokinine au niveau des couches III, V et VI. Enfin, diverses études ont fait état d'une modification de l'expression de récepteurs (par exemple, voir Hemby et coll., 2002), comme une diminution de celle des récepteurs $GABA_B$ (Mizukami et coll., 2002) ou de celle des récepteurs à la neurotensine (Hamid et coll., 2002, mais Lahti et coll., 1998).

DEUXIEME PARTIE :
CONTRIBUTION EXPERIMENTALE

Considérations méthodologiques

Animaux

Toutes les expériences décrites dans ce mémoire ont été menées sur des rats mâles de la souche Long-Evans provenant du Centre d'Elevage René Janvier (France) et âgés de 3 mois (275-300g) au moment de leur arrivée au laboratoire. A leur arrivée, les animaux sont placés à deux par cage (42 x 26 x 15 cm) dans une animalerie attenante à la salle d'expérience. L'animalerie et la salle d'expérience ont une température ambiante (21°C) et une humidité (50%) constantes. Les animaux sont soumis à un cycle nycthéméral 12h/12h (lumière à 7 heures; fond musical durant la phase lumineuse), les expériences se déroulant durant la phase diurne du cycle nycthéméral (généralement dans la matinée). Les rats ont accès à la nourriture et à la boisson *ad libitum* en dehors des phases de restrictions hydriques conditionnées par la passation de tests comportementaux.

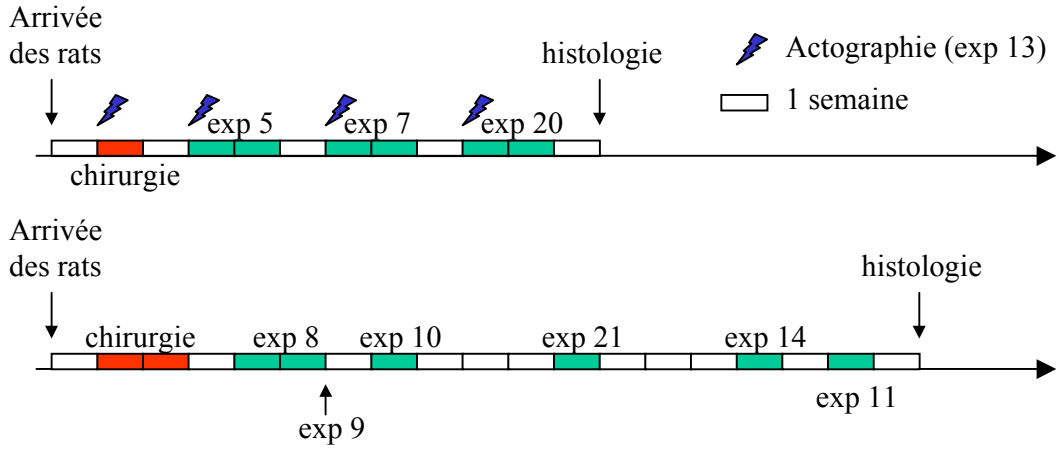
Technique lésionnelle

Les lésions effectuées dans les expériences décrites dans ce mémoire correspondent toutes à des lésions excitotoxiques bilatérales du cortex entorhinal. Elles ont été réalisées en utilisant une technique d'injections multiples de NMDA, cette dernière ayant été progressivement affinée au cours de ce travail. Notre travail s'inscrivant dans le prolongement d'une étude réalisée au laboratoire (Coutureau et coll., 1999), nous avons dans un premier temps utilisé la même technique chirurgicale, ainsi que les mêmes coordonnées stéréotaxiques (expériences 3, 17 et 19). Dans cette étude de Coutureau et collaborateurs, l'évaluation de la localisation et de l'étendue des lésions avait été réalisée à partir de coupes horizontales, mais nous avons préféré réaliser cette évaluation à partir de coupes frontales, permettant une meilleure détermination de l'étendue des lésions. Cette évaluation sur coupes frontales a permis de mettre en évidence des atteintes le long du tract de la canule d'injection, résultant probablement d'une remontée du NMDA le long de cette canule lors de l'opération. Pour palier à ce problème et ainsi réduire le nombre d'animaux écartés après vérification histologique, nous avons augmenté le temps alloué à la diffusion du produit, passant de 1 à 5 minutes (expérience 18). Cette modification s'étant avérée insuffisante, nous avons procédé à de légères modifications des coordonnées (expérience 16), conduisant à des lésions plus sélectives, avec moins de remontées du produit toxique le long des canules. Bien que présentant l'avantage d'être restreintes au cortex entorhinal, nos lésions (expériences 3, 16, 17,

18 et 19), ainsi que celles de Coutureau et collaborateurs (Coutureau et coll., 1999), n'englobent pas la totalité du cortex entorhinal. Il est en effet particulièrement difficile d'allier des lésions à la fois sélectives et complètes d'une structure donnée en particulier dans le cas du cortex entorhinal. Nous avons cependant cherché à augmenter l'étendue des lésions, notamment leur étendue antéro-postérieure. Pour ce faire, nous avons modifié les coordonnées, optant pour l'utilisation de plusieurs points de descente selon la coordonnée antéro-postérieure (une seule descente selon cette coordonnée dans les expériences précédentes). Afin de limiter les dommages induits par la descente de la canule d'injection (canule métallique d'un diamètre externe de 0,28 mm), nous avons remplacé celle-ci par une micropipette en verre étiré de telle manière à obtenir un diamètre externe d'environ 0,06 mm au bout. Cette nouvelle technique chirurgicale, avec de nouvelles coordonnées et une canule plus fine, a été utilisée pour le reste des expériences décrites dans ce mémoire, à savoir les expériences 5, 7, 8, 9, 10, 11, 13, 14, 20, et 21.

Tests comportementaux

Dans certains cas, les mêmes animaux (ceux porteurs de lésions) ont pu être testés dans plusieurs tests comportementaux différents (en neutralisant, par randomisation, les traitements reçus dans les expériences précédentes), cette précision étant indiquée dans la partie "Animaux" de la partie "Matériel et méthodes" des expériences correspondantes. Ainsi, les rats de l'expérience 16 proviennent d'une expérience similaire à l'expérience 3 (réplication non présentée dans ce mémoire). De même, les rats de l'expérience 5 ont été réutilisés dans l'expérience 7, puis dans l'expérience 19 ; l'expérience 13 étant conduite en parallèle de ces expériences. Enfin, les rats de l'expérience 8 ont été testés à plusieurs reprises, à savoir, dans l'ordre chronologique, dans les expériences 9, puis 10, puis 21, puis 14 et enfin 11. Ces éléments sont résumés schématiquement ci-après.



Description des matériels et méthodes dans les expériences successives

Dans les expériences où le matériel et la méthode employés sont similaires à ceux déjà utilisés dans d'autres expériences, mention en est faite à la première description.

CHAPITRE 1 :
EFFETS DE LA LESION DU CORTEX ENTORHINAL SUR L'INHIBITION LATENTE

INTRODUCTION

Le déficit d'inhibition latente induit par la lésion du cortex entorhinal a été mis en évidence dans plusieurs situations expérimentales différentes, à savoir la réponse émotionnelle conditionnée avec des SC sonores (Coutureau et coll., 1999 ; Coutureau et coll., 2000b) ou visuels (Yee et coll., 1995a), le conditionnement du réflexe palpébral (Shohamy et coll., 2000) et également un conditionnement appétitif (Oswald et coll., 2002). Bien que ces premiers résultats suggèrent que le cortex entorhinal puisse être impliqué dans l'inhibition latente quel que soit le protocole utilisé, il convient de tester la généralité de ces résultats dans d'autres situations d'apprentissage. Dans cette optique, la situation d'aversion gustative conditionnée revêt une importance toute particulière, des résultats divergents ayant été obtenus dans cette situation par rapport à celle de réponse émotionnelle conditionnée[2] et ceci consécutivement à la lésion de certaines structures cérébrales, dont l'hippocampe et le septum. Ainsi, dans la réponse émotionnelle conditionnée, des lésions excitotoxiques de l'hippocampe n'affectent pas l'inhibition latente (Coutureau et coll., 1999), alors que de telles lésions produisent une facilitation d'inhibition latente dans une situation d'aversion gustative conditionnée (Reilly et coll., 1993). Des lésions électrolytiques de l'hippocampe induisent quant à elles, un déficit dans un cas (Kaye et Pearce, 1987), et une facilitation dans l'autre (Purves et coll., 1995). De même, des lésions électrolytiques du septum produisent un déficit d'inhibition latente dans une situation de réponse émotionnelle conditionnée (Weiss et coll., 1974) et une facilitation d'inhibition latente dans une situation d'aversion gustative conditionnée (Turgeon et coll., 2001).

Dans les expériences décrites dans ce chapitre, nous avons donc cherché à reproduire l'effet délétère de la lésion du cortex entorhinal sur l'inhibition latente dans une situation de réponse émotionnelle conditionnée (Coutureau et coll., 1999) et à comparer ce résultat à celui obtenu dans une situation d'aversion gustative conditionnée. Dans un premier temps, nous avons mis en évidence le phénomène d'inhibition latente dans la situation de réponse émotionnelle conditionnée (expérience 1), et étudié l'influence des paramètres du conditionnement sur

[2] La réponse émotionnelle conditionnée (également peur conditionnée) correspond à la peur présentée par l'animal en réaction à un SC (généralement un son ou une lumière) qui a été associé à un choc électrique (SI). L'aversion gustative conditionnée correspond à la diminution de consommation d'une boisson (généralement une solution sucrée, SC) qui a été associée à un malaise (le plus souvent induit par du chlorure de lithium, SI).

l'inhibition latente dans cette même situation (expérience 2), avant de tenter de répliquer le résultat de Coutureau et collaborateurs (expérience 3). Cette première tentative s'étant avérée infructueuse en raison, vraisemblablement, d'un niveau de conditionnement trop faible, nous avons déterminé de nouveaux paramètres pour cette situation (expérience 4), mais également pour l'autre tâche comportementale utilisée (aversion gustative conditionnée, expérience 6), afin de pouvoir par la suite évaluer les effets de la lésion dans ces deux situations (expériences 5 et 7).

EXPERIENCE 1 : EFFET DU NOMBRE DE PRESENTATIONS DU SON LORS DE LA PHASE DE PREEXPOSITION SUR L'INHIBITION LATENTE DANS LA SITUATION DE REPONSE EMOTIONNELLE CONDITIONNEE

Introduction

L'une des propriétés fondamentales de l'inhibition latente est que son amplitude dépend de la quantité de présentations non renforcées du stimulus conditionnel avant son appariement avec le stimulus inconditionnel, *i.e.* de sa quantité de préexposition. De fait, il a été montré que l'inhibition latente dépend à la fois du nombre de présentations du stimulus conditionnel et de la durée de chacune de ces présentations (voir introduction générale). Cette première expérience a pour but de mettre en évidence une inhibition latente robuste tout en illustrant cette propriété. A cette fin, nous avons fait varier la quantité de préexposition au stimulus conditionnel dans différents groupes d'animaux en faisant varier le nombre de fois où le stimulus est présenté lors de la phase de préexposition.

Matériel et méthodes

Animaux

Quarante rats sont utilisés dans cette expérience où ils sont soumis à une restriction hydrique (voir protocole).

Matériel

Huit boîtes de conditionnement, individuellement placées dans des unités d'isolation phonique (57 x 38 x 38 cm, Campden LtD) ventilées (bruit de fond de 60 dB) et éclairées par une lumière d'ambiance (5 lux), sont utilisées. Les boîtes de conditionnement (figure 1.1) sont constituées de parois en Plexiglas transparent (25 x 27 x 18 cm), d'un plancher composé de barreaux métalliques inoxydables (3 mm de diamètre ; 8 mm d'espacement) sous lesquels se trouve un plateau amovible contenant de la sciure. Ces barreaux sont connectés à un générateur d'impulsions (Med Associates) permettant de délivrer un choc électrique au niveau des pattes de l'animal. La paroi droite de la cage est munie d'un tube métallique de lapement

(qui peut être retiré), de deux petites lampes (toujours éteintes) situées de part et d'autre du tube de lapement et d'un haut-parleur protégé par une grille métallique et situé 2 cm au-dessus du tube de lapement. Ce tube peut être introduit dans la cage par un trou (1 cm de diamètre) situé au milieu de la paroi, à 4 cm du plancher. Une fois mis en place, le tube dépasse de 2 cm à l'intérieur de la cage (avec un angle de 30° entre le tube et le plan de la paroi). A son extrémité externe, le tube de lapement est connecté par un cathéter en polyéthylène à un réservoir d'eau situé au-dessus de la boîte de conditionnement. Une électrovanne placée sur le trajet permet de contrôler l'écoulement de l'eau.

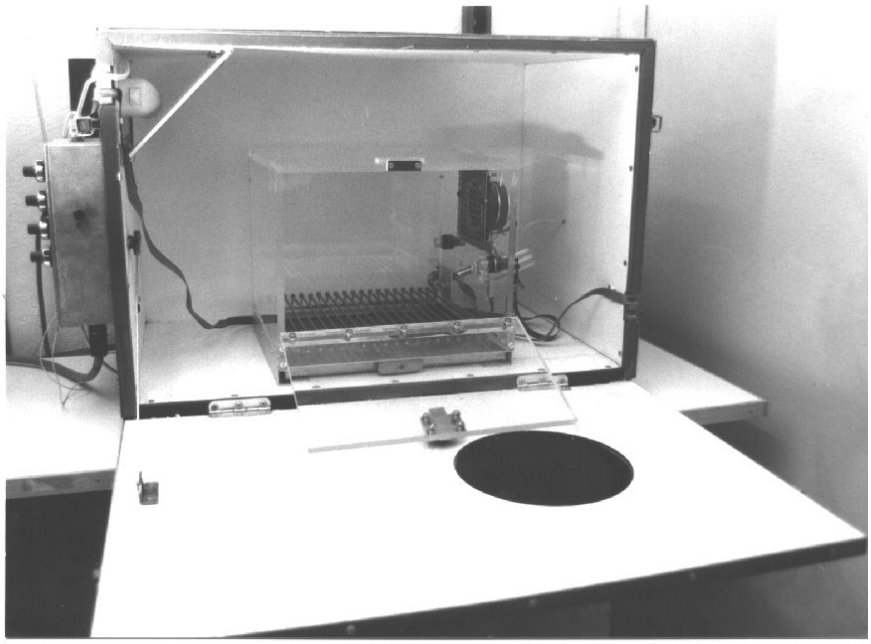


Figure 1.1 : Photographie d'une cage de conditionnement dans son unité d'isolation.

Les boîtes de conditionnement sont connectées à une interface électronique (Med Associates), elle-même connectée à un ordinateur équipé du logiciel Med-PC (Med Associates). Le lapement du tube par l'animal est détecté par l'interface qui envoie en retour un signal permettant l'activation de l'électrovanne et son ouverture pendant 0,2 secondes permettant ainsi la distribution d'une goutte d'eau à l'animal. Selon le programme de renforcement choisi, l'électrovanne est activée tous les 1, 5 ou 10 lapements (FR1, FR5 ou FR10, respectivement). L'interface permet également d'activer le haut-parleur, selon une fréquence (4000 Hz) et une intensité (70 dB, *i.e.* 10 dB au-dessus du bruit de fond) réglées au

niveau d'un générateur de son (construit au laboratoire) ainsi que le générateur de choc, dont l'intensité peut être réglée à l'aide d'un potentiomètre.

Protocole

La veille au soir de l'expérience, la boisson est retirée et ce pour toute la durée de l'expérience (23h20 de privation par jour). A l'issue de chaque séance journalière (30 min après), les animaux ont accès à l'eau dans leur cage d'habitation pendant 20 minutes (en plus des 20 minutes d'accès au cours de la séance).

Le protocole utilisé est un protocole dit "*between*" et "*off-baseline*" (cf. introduction générale) et comporte cinq phases : entraînement, préexposition, conditionnement, réentraînement et test.

Entraînement (J1 à J5)

Cette première phase a pour but d'une part d'entraîner les rats à boire au tube de lapement, et d'autre part de les amener à un rythme élevé et stable de lapement. Le premier jour (J1), un programme de renforcement progressif est utilisé : FR1 pour les 10 premiers renforcements, FR5 pour les 10 suivants et FR10 pour le reste de la séance. Les jours suivants (J2 à J5), seul le programme de renforcement FR10 est utilisé. Chaque séance dure 20 minutes. De J2 à J5 sont enregistrés le nombre total de lapements (LAP) ainsi que la latence mise par l'animal pour effectuer 10 lapements (LAT_{10}) après le début de la séance.

Préexposition (J6)

Pour cette phase, les tubes de lapements sont retirés des boîtes de conditionnement. Quatre groupes de 8 rats sont constitués. Les animaux préexposés (PE, groupes PE2, PE3, PE4 et PE9) reçoivent, respectivement 2, 3, 4 ou 9 présentations du son (4 kHz, 10 dB, 30 s) selon le décours temporel schématisé à la figure 1.2. Les animaux non préexposés (groupe NPE) sont placés dans la boîte de conditionnement pour une même durée de 20 minutes, mais aucun son n'est délivré.

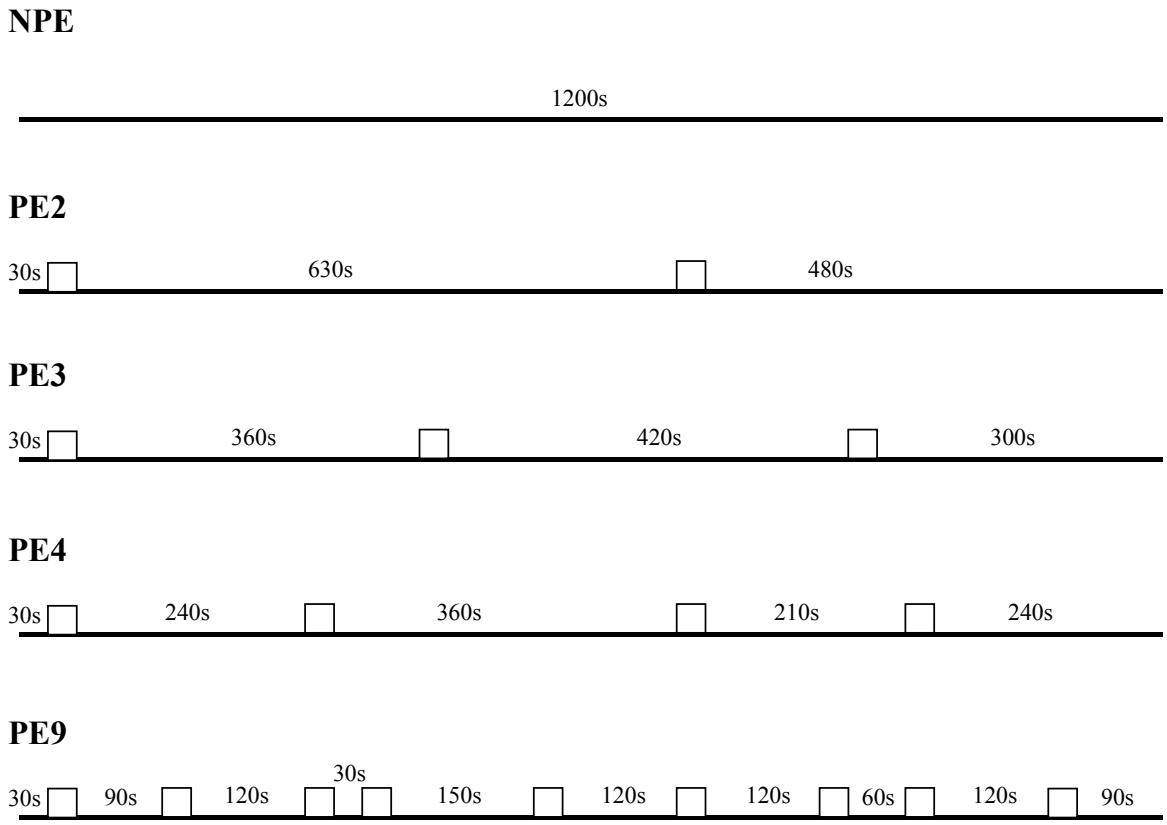


Figure 1.2 : Représentation schématique du décours temporel de la présentation du son (durée de 30s figurée par les carrés blancs) lors de la phase de préexposition.

Conditionnement (J7)

Pour cette phase, les tubes de lapements sont retirés des boîtes de conditionnement. Un son (mêmes caractéristiques que lors de la phase de préexposition) suivi immédiatement de la délivrance d'un choc électrique (0,6 mA, 0,8 s) est présenté à deux reprises suivant le décours temporel schématisé à la figure 1.3.

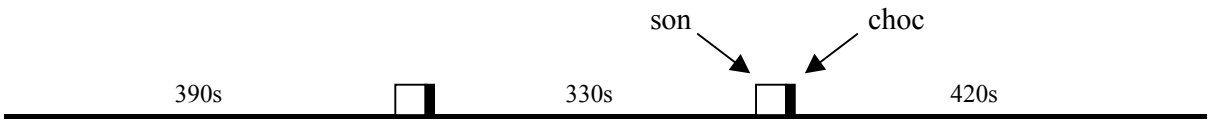


Figure 1.3 : Représentation schématique du décours temporel de la présentation des sons et des chocs lors de la phase de conditionnement.

Réentraînement (J8 et J9)

Cette phase a pour but de réinstaller un niveau suffisant de lapement après la phase de conditionnement d'une part et de dénombrer les réponses au contexte éventuellement induites par la délivrance de chocs électriques. Au cours de cette phase, les tubes de lapements sont réintroduits dans les boîtes de conditionnement. Ces séances sont identiques à celles d'entraînement (programme de renforcement FR10, 20 minutes) et sont enregistrées le nombre total de lapements (LAP), ainsi que la latence mise par l'animal pour effectuer 10 lapements (LAT_{10}) après le début de chaque séance.

Test (J10)

Cette phase a pour but de tester, dans un protocole d'extinction (c'est à dire sans SI), la "force" de la réponse au stimulus conditionné (son) en mesurant la cessation de la réponse opérante de lapement. L'initiation du programme de test dépend de l'activité de lapement de l'animal, dès que l'animal a effectué au moins 20 lapements dans une période de 30 secondes, le programme comptabilise le nombre de lapements ($N_{pré\text{-}son}$) effectués par le rat pendant la période de 30 secondes suivante définie dès lors comme la période pré-son. A l'issue de cette période, le son (mêmes caractéristiques que précédemment) est activé et le nombre de lapements effectués durant le son (N_{son}), ainsi que la latence mise par l'animal pour effectuer 10 lapements après le début du son (LAT_{son}), sont comptabilisés. Le programme est arrêté 10 minutes après le début du son et si l'animal n'a pas repris son activité de lapement, une latence de 600 s est alors attribuée à cet animal. Comme pour les séances d'entraînement et de réentraînement, la latence mise par l'animal pour effectuer 10 lapements (LAT_{10}) après le début de la séance est également mesurée.

Analyse des données

Pour la phase d'entraînement, les variables LAP et LAT_{10} font l'objet d'une analyse de variance (ANOVA) à un facteur (facteur Séance à 4 niveaux). Les différences entre les groupes sont analysées par des comparaisons *post-hoc* avec le test de Newman-Keuls.

Les phases de préexposition et de conditionnement ne donnant lieu à aucune mesure directe ne font pas l'objet d'analyse.

Pour la phase de réentraînement, les variables LAP et LAT_{10} font l'objet d'une analyse de variance (ANOVA) à deux facteurs (facteur Préexposition à 5 niveaux [NPE ; PE2 ; PE3 ; PE4 ; PE9] et facteur Séance à 2 niveaux [J8 ; J9]). Les différences entre les groupes sont établies par des comparaisons *post-hoc* avec le test de Newman-Keuls.

Pour la phase de test, la réponse émotionnelle conditionnée est évaluée en analysant deux variables dépendantes :

- le rapport de suppression, R et
- la $latence_{10}$.

Le rapport de suppression correspond au nombre de lapements effectués pendant le son (N_{son}), divisé par le nombre de lapements effectués avant ($N_{pré\text{-}son}$) et pendant (N_{son}) le son : $R = N_{son} / (N_{pré\text{-}son} + N_{son})$. Un rapport de suppression égal à 0 signifie que le rat cesse complètement de boire durant la présentation du son et indique donc une forte réponse émotionnelle conditionnée. A l'opposé, un rapport de suppression égal à 0,5 signifie que le rat effectue autant de lapements durant le son que durant la période pré-son et indique donc une absence de réponse émotionnelle conditionnée.

La $latence_{10}$ correspond au logarithme décimal de la latence LAT_{son} (cette transformation ayant été réalisée du fait de variances non homogènes). Une $latence_{10}$ élevée signifie que le rat présente une forte latence pour reprendre son activité de lapement consécutivement à la présentation du son et indique donc une forte réponse émotionnelle conditionnée.

Ces deux variables R et $latence_{10}$, ainsi que les variables LAT_{10} et Npré-son, font l'objet d'une analyse de variance (ANOVA) à un facteur (facteur Préexposition à 5 niveaux [NPE ; PE2 ; PE3 ; PE4 ; PE9]). Les différences entre les groupes sont établies par des comparaisons *post-hoc* avec le test de Newman-Keuls.

Résultats

Evolution pondérale des animaux

Les animaux s'adaptent bien à la restriction hydrique comme l'indique la reprise de poids régulière qui fait suite à la légère chute de poids (moins de 15 grammes) observée au cours des premiers jours (figure 1.4).

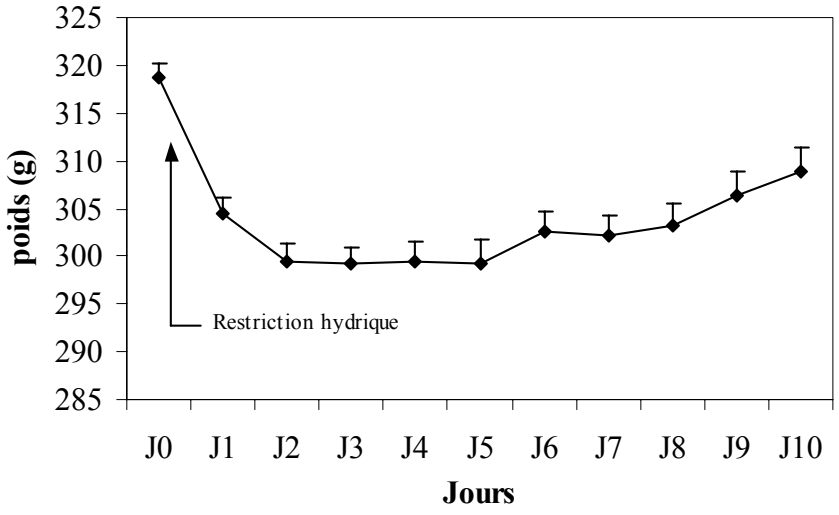


Figure 1.4 : Evolution pondérale des animaux au cours de l'expérience. Moyenne (± erreur type) du poids des animaux.

Entraînement

Au cours de cette phase, les animaux apprennent rapidement la réponse opérante (lapement), comme l'indique d'une part l'augmentation du nombre de lapements au cours des séances et d'autre part la diminution de la latence mise par l'animal pour effectuer les dix premiers lapements (figure 1.5). Par ailleurs, les différents groupes (NPE, PE2, PE3, PE4 et PE9) présentent une activité de lapement comparable à l'issue de cet apprentissage (données non illustrées). La description de ces données est confirmée par l'ANOVA ($F(3,117)=12,89$, $p<0,0001$ et $F(3,117)=75,58$, $p<0,0001$ pour les variables LAP et LAT10 respectivement). L'analyse *post-hoc* indique que le nombre de lapements le jour J2 est inférieur à celui des jours J3, J4 et J5 ($p<0,001$ dans tous les cas). Concernant la variable LAT10, l'analyse *post-*

hoc indique que les latences des jours J2, J3, J4 et J5 diffèrent toutes entre elles ($p<0,05$ au moins).

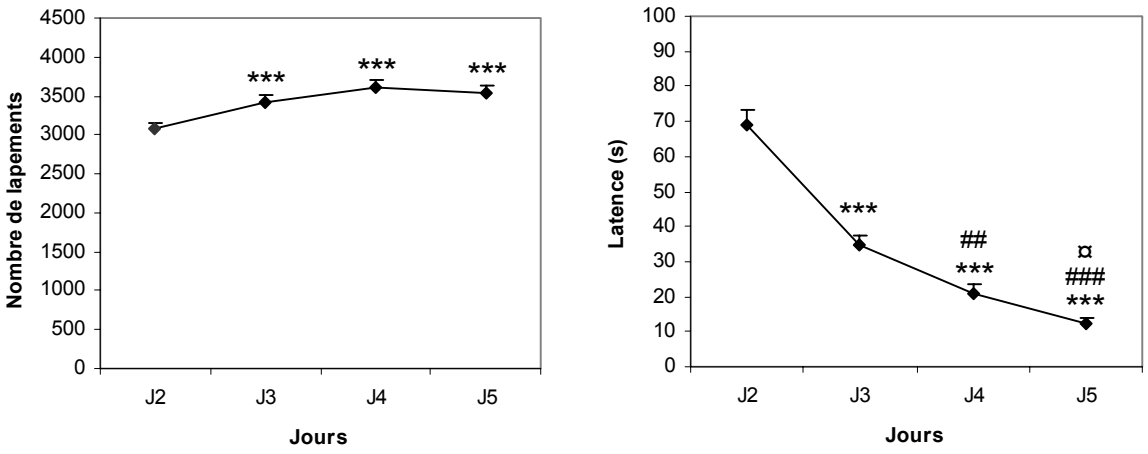


Figure 1.5 : Evolution de l'activité de lapement au cours de l'entraînement. Moyenne (± erreur type) du nombre total de lapements (à gauche) et de la latence mise par l'animal pour effectuer les 10 premiers lapements (à droite). *** : $p<0,001$ par rapport à J2 ; ### : $p<0,001$ et ## : $p<0,01$ par rapport à J3 ; ¤ : $p<0,05$ par rapport à J4.

Réentraînement

Au cours de la phase de réentraînement, les animaux ne semblent pas présenter de peur du contexte (boîte de conditionnement) comme le suggèrent la diminution de la latence mise pour effectuer les dix premiers lapements (de 12,4 s (moyenne de tous les groupes confondus) pour le dernier jour d'entraînement à 3,2 s pour le premier et 4,5 s pour le deuxième jour de réentraînement) et l'augmentation du nombre de lapements (3530 (moyenne de tous les groupes confondus) pour le dernier jour d'entraînement à 4490 pour le premier et 4081 pour le deuxième jour de réentraînement).

Les latences (LAT_{10}) des différents groupes (NPE, PE2, PE3, PE4 et PE9) ne diffèrent pas pour les deux séances comme le confirme l'ANOVA qui ne révèle pas d'effet significatif des facteurs Séance ($F(4,35)=0,96$, ns), Groupe ($F(1,35)=1,26$, ns), ni de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(4,35)=1,82$, ns). Concernant le nombre de lapements (LAP), l'ANOVA révèle un effet Séance ($F(1,35)=14,33$, $p<0,001$), un effet Groupe proche de la significativité ($F(4,35)=2,39$, $p=0,07$), mais pas d'interaction entre ces deux facteurs. L'analyse *post-hoc* de

comparaisons multiples entre groupes[3] indique que les groupes PE2 et PE9 présentent une activité de lapement plus faible que le groupe NPE lors de la première séance de réentraînement ($p<0,001$ et $p<0,05$, respectivement), mais les différents groupes ne diffèrent pas entre eux au cours de la deuxième séance.

Test

Le jour du test, les latences (LAT_{10}) des différents groupes (NPE, PE2, PE3, PE4 et PE9) ne diffèrent pas comme le confirme l'ANOVA qui ne révèle pas d'effet significatif du facteur Groupe ($F(4,35)=0,23$, ns).

Durant la période pré-son, le nombre de lapements $N_{pré\text{-}son}$ effectué par les animaux des différents groupes ne diffère pas ($F4,35)=0,24$, ns), ce qui nous autorise à utiliser le rapport de suppression comme variable dépendante pour mesurer la réponse conditionnée.

Les rapports de suppression obtenus pour les différents groupes sont présentés à la figure 1.6. Le groupe NPE présente un rapport de suppression proche de 0 (0,06 ± 0,04) indiquant une forte réponse émotionnelle conditionnée. Le groupe PE2 présente également un rapport de suppression assez proche de 0 (0,15 ± 0,08) indiquant une réponse émotionnelle conditionnée assez importante. Les groupes PE3, PE4 et PE9 présentent des rapports de suppression voisins de 0,4 (0,41 ± 0,23, 0,36 ± 0,19 et 0,45 ± 0,14, respectivement) indiquant une faible réponse émotionnelle conditionnée. Cette description est confirmée par l'ANOVA qui révèle un effet significatif du facteur Groupe ($F(4,35)=6,90$, $p<0,001$). L'analyse *post-hoc* indique que les groupes PE3, PE4 et PE9 présentent des rapports de suppression différents de celui du groupe NPE ($p<0,01$ dans tous les cas) ainsi que du groupe PE2 ($p<0,05$ dans tous les cas).

[3] Une controverse entoure la question de savoir s'il faut insister pour que la valeur F globale des groupes soit significative avant de procéder à des comparaisons multiples entre certaines moyennes de groupes. Or, la conception actuelle et la logique qui sous-tendent la plupart des tests *a posteriori* (notamment le test de Newman-Keuls) ne nécessitent pas d'avoir un résultat global significatif avant de procéder à des comparaisons spécifiques (Howell, 1998).

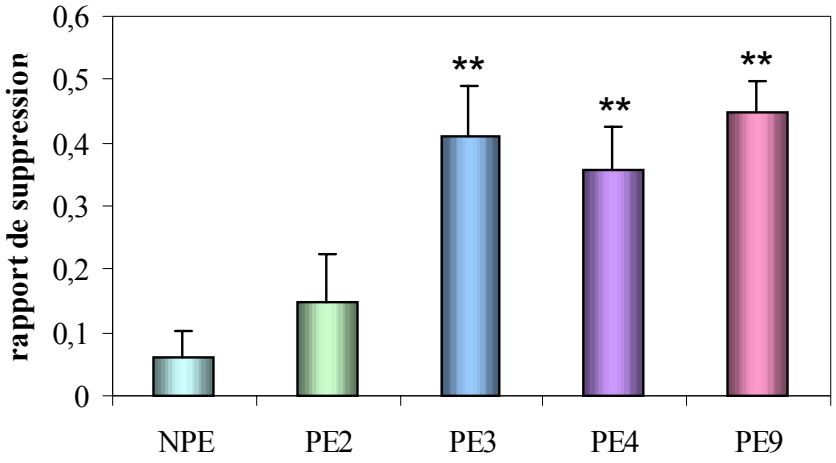


Figure 1.6 : Effet du nombre de préexpositions sur l'inhibition latente. Moyenne (± erreur type) du rapport de suppression. ** : p<0,01 par rapport au groupe NPE. *Alors que 3,4 et 9 présentations du son lors de la phase de préexposition permettent d'induire de l'inhibition latente, 2 présentations du son ne suffisent pas.*

Les latence$_{10}$ obtenus pour les différents groupes sont présentés à la figure 1.7. Cette figure montre qu'un patron de résultats analogues est obtenu en considérant la variable latence$_{10}$. En effet, le groupe NPE présente une latence$_{10}$ de 1,54 ± 0,26 indiquant une forte réponse émotionnelle conditionnée. Le groupe PE2 présente également une latence$_{10}$ élevée (1,24 ± 0,92) indiquant une réponse émotionnelle conditionnée assez importante. Les groupes PE3, PE4 et PE9 présentent des latence$_{10}$ moins élevées (0,32 ± 0,55, 0,59 ± 0,62 et 0,11 ± 0,16, respectivement) indiquant une faible réponse émotionnelle conditionnée. Cette description est confirmée par l'ANOVA qui révèle un effet significatif du facteur Groupe ($F(4,35)=9,17$, $p<0,0001$). L'analyse *post-hoc* indique que les groupes PE3, PE4 et PE9 présentent des latence$_{10}$ différentes de celle du groupe NPE ($p<0,01$ au moins) ainsi que du groupe PE2 ($p<0,05$ au moins).

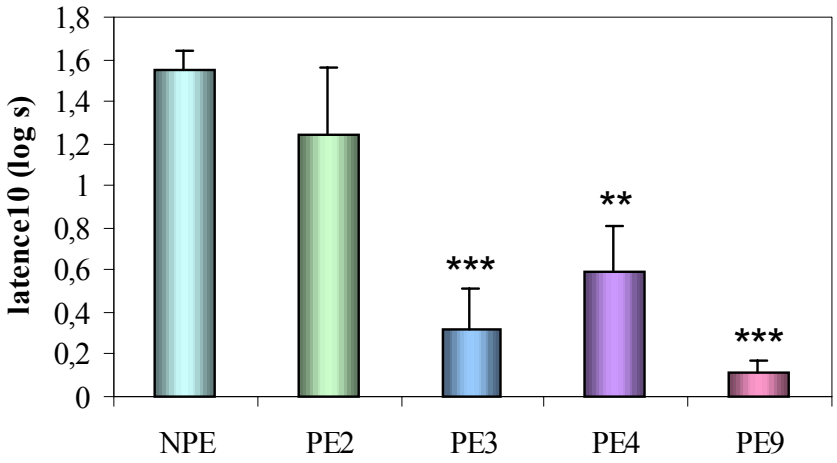


Figure 1.7 : Effet du nombre de préexpositions sur l'inhibition latente. Moyenne (± erreur type) des latence$_{10}$. ** : p<0,01 et *** : p<0,001 par rapport au groupe NPE. *Alors que 3,4 et 9 présentations du son lors de la phase de préexposition permettent d'induire de l'inhibition latente, 2 présentations du son ne suffisent pas.*

Discussion

Les résultats de cette expérience montrent que l'augmentation du nombre de présentations du son lors de la phase de préexposition diminue l'amplitude de la réponse émotionnelle conditionnée par rapport à celle obtenue lorsque ce stimulus n'a pas été préalablement présenté. Dans nos conditions expérimentales, 2 présentations du son ne permettent pas d'observer cette diminution, *i.e.* de l'inhibition latente, alors que 3, 4 et 9 présentations du son induisent une inhibition latente d'amplitude comparable.

L'absence d'inhibition latente lorsque le son n'a été présenté que 2 fois lors de la phase de préexposition est cohérente avec les données obtenues par d'autres groupes, la quantité de préexposition correspondante, soit 60 s, étant de l'ordre de celle généralement décrite comme n'induisant pas d'inhibition latente (50 ou 100 s dans la plupart des cas ; Joseph et coll., 2000 ; Weiner et coll., 1994).

Les résultats obtenus avec 9 préexpositions sont en accord avec ceux d'autres expériences réalisées au laboratoire en utilisant un son de même durée (Coutureau et coll., 1999 ; Coutureau et coll., 2000b), mais également d'autres laboratoires utilisant des sons de durée plus brève. Ainsi, dans cette expérience, la quantité totale de préexposition au son est de 270 secondes, ce qui représente une durée de préexposition similaire à celles généralement

utilisées dans d'autres laboratoires pour mettre en évidence de l'inhibition latente (200 ou 400 s selon qu'il s'agit d'un son de 5 s ou de 10 s ; Gaisler-Salomon et Weiner, 2003 ; Joseph et coll., 2000 ; Weiner et Feldon, 1992 ; Weiner et coll., 1994).

Dans cette expérience, bien qu'il n'y ait que 30 secondes de différence entre la condition qui n'induit pas d'inhibition latente (PE2 avec 60 s de présentation du son) et celle qui en induit (PE3 avec 90 s de présentation du son), nous n'avons pas pu observer de gradation dans l'amplitude de l'inhibition latente. Généralement, la condition de préexposition décrite dans les autres études pour obtenir de l'inhibition latente est de durée très supérieure à celle n'en induisant pas (voir précédemment, mais Binder et coll., 2002), rendant la mise en évidence d'une gradation difficile. Notre résultat permet donc de confirmer l'absence de gradation dans l'inhibition latente qui avait été décrite avec un incrément supérieur au nôtre (100 secondes ; Moran et Moser, 1992, voir également Christison et coll., 1988 pour un plus faible incrément). Cet effet pourrait être lié au protocole "*off-baseline*" utilisé ; en effet, tant l'utilisation d'un nombre fixe d'appariements lors de la phase de conditionnement que l'évaluation de la réponse conditionnée consécutivement à une présentation unique du stimulus lors de la phase de test tendent à produire un effet de type "tout ou rien" sur la réponse conditionnée.

Bien que de l'inhibition latente ait été obtenue dans cette expérience dès 3 présentations du son lors de la phase de préexposition, nous avons sélectionné la condition de préexposition consistant en 9 présentations du son dans l'expérience suivante, afin de nous garantir l'obtention d'une inhibition latente robuste tout en nous plaçant dans une condition de préexposition comparable à celles utilisées dans d'autres laboratoires.

EXPERIENCE 2 : EFFET DE L'INTENSITE DU STIMULUS INCONDITIONNEL SUR L'INHIBITION LATENTE DANS LA SITUATION DE REPONSE EMOTIONNELLE CONDITIONNEE

Introduction

Bien que la suppression d'inhibition latente induite par une augmentation de l'impact du conditionnement soit prédite par différents modèles théoriques (modèle du *switching* et modèle du comparateur ; cf. introduction générale), il existe peu d'études dans lesquelles les auteurs ont fait varier les paramètres du conditionnement (Killcross et coll., 1994 ; Ruob et coll., 1998 ; Weiner et coll., 1997a ; Weiner et coll., 1997c). Or, l'influence des paramètres du conditionnement sur l'inhibition latente a une importance particulière dans le cadre des études portant sur son substrat neurobiologique puisque la suppression d'inhibition latente induite par un traitement pharmacologique (Killcross et coll., 1994, mais Weiner et coll., 1997c) ou des lésions cérébrales (Coutureau, 1999) pourrait dépendre d'une augmentation de l'impact du conditionnement. Bien que la présence d'un groupe non préexposé dans ces études permette théoriquement de contrôler un tel effet, le niveau "plancher" du conditionnement généralement obtenu dans ce groupe limite la pertinence de ce contrôle.

Le but de cette expérience est de tester si la condition de préexposition retenue consécutivement à l'expérience précédente induit une inhibition latente dont l'amplitude soit modulable en fonction de la force du conditionnement. Pour ce faire, nous avons conservé les mêmes paramètres de conditionnement à l'exception de l'intensité du choc électrique administré lors de la phase de conditionnement que nous avons fait varier dans différents groupes d'animaux.

Matériel et méthodes

Quarante sept rats sont utilisés dans cette expérience. Le matériel et le protocole utilisés sont identiques à ceux de l'expérience 1, excepté en ce qui concerne les phases de préexposition et de conditionnement. Au cours de la phase de préexposition, seuls deux groupes sont constitués : les animaux préexposés (groupe PE9, n=24) qui reçoivent 9 présentations du son (4 kHz, 10 dB, 30 s) et les animaux non préexposés (groupe NPE, n=23) qui sont simplement placés dans la boîte de conditionnement pour une même durée de 20 minutes. Au cours de la phase de conditionnement, le son (mêmes caractéristiques que lors de

la phase de préexposition) est apparié à deux reprises avec le choc électrique (0,8 s) comme dans l'expérience précédente, mais trois intensités différentes de choc sont utilisées pour chacune des deux conditions de préexposition (0,6 ; 0,7 et 0,8 mA), formant ainsi 6 groupes d'animaux différents (n=7-8 par groupe).

Seules les données obtenues lors des phases de réentraînement et de test sont présentées, les autres ayant été décrites en détail dans l'expérience 1. De plus, la réponse émotionnelle conditionnée n'est évaluée qu'en analysant le rapport de suppression R, la latence$_{10}$ donnant des résultats analogues.

Pour la phase de réentraînement, les variables LAP et LAT_{10} font l'objet d'une analyse de variance (ANOVA) à trois facteurs (facteur Préexposition à 2 niveaux [NPE ; PE9], facteur Intensité à 3 niveaux [0,6 ; 0,7 ; 0,8] et facteur Séance à 2 niveaux). Pour la phase de test, la variable R, ainsi que les variables LAT_{10} et $N_{pré\text{-}son}$, font l'objet d'une analyse de variance (ANOVA) à deux facteurs (facteur Préexposition à 2 niveaux [NPE ; PE9] et facteur intensité à 3 niveaux [0,6 ; 0,7 ; 0,8]). Les différences entre les groupes sont établies par des comparaisons *post-hoc* avec le test de Newman-Keuls.

Résultats

Réentraînement

Au cours de la phase de réentraînement, les animaux des différents groupes ne diffèrent pas entre eux et ne semblent pas présenter de peur du contexte (boîte de conditionnement) comme le suggèrent la diminution de la latence mise par l'animal pour effectuer les dix premiers lapements (de 17,1 s (moyenne de tous les groupes confondus) pour le dernier jour d'entraînement à 11,6 s pour le premier et 5,9 s pour le deuxième jour de réentraînement) et l'augmentation du nombre de lapements (3805 (moyenne de tous les groupes confondus) pour le dernier jour d'entraînement à 4244 pour le premier et 3832 pour le deuxième jour de réentraînement).

Concernant les latences (LAT_{10}), l'ANOVA révèle un effet Séance ($F(1,41)=8,10$, $p<0,01$), mais pas d'effet significatif des facteurs Préexposition ($F(1,41)=0,64$, ns), Intensité ($F(2,41)=0,38$, ns), ni de l'interaction entre ces trois facteurs ($F(2,41)=0,79$, ns). Concernant le nombre de lapements (LAP), l'ANOVA révèle un effet Séance ($F(1,41)=21,90$, $p<0,0001$),

mais pas d'effet significatif des facteurs Préexposition (F(1,41)=0,24, ns), Intensité (F(2,41)=1,06, ns), ni de l'interaction entre ces trois facteurs (F(2,41)=0,96, ns).

Test

Le jour du test, les latences (LAT_{10}) des différents groupes ne diffèrent pas comme le confirme l'ANOVA qui ne révèle pas d'effet significatif du facteur Préexposition (F(1,41)=0,16, ns) ni du facteur Intensité (F(2,41)=2,20, ns), ni de l'interaction entre ces deux facteurs (F(2,41)=0,99, ns).

Durant la période pré-son, le nombre de lapements $N_{pré\text{-}son}$ effectué par les animaux des différents groupes ne diffère pas comme le confirme l'ANOVA qui ne révèle pas d'effet significatif du facteur Préexposition (F(1,41)=0,52, ns), ni du facteur Intensité (F(2,41)=0,61, ns), ni de l'interaction entre ces deux facteurs (F(2,41)=1,80, ns). Cette absence de différence entre les différents groupes nous autorise à utiliser le rapport de suppression comme variable dépendante pour mesurer la réponse conditionnée.

Les résultats (rapport de suppression) obtenus pour les différents groupes sont présentés à la figure 2.1. Les groupes NPE présentent des rapports de suppression proches de 0 (0,01 ± 0,02, 0,03 ± 0,06 et 0,10 ± 0,17 pour les intensités 0,6, 0,7 et 0,8 mA, respectivement) indiquant une forte réponse émotionnelle conditionnée. Le groupe PE9 pour l'intensité 0,6 mA présente un rapport de suppression proche de 0,4 (0,33 ± 0,21) indiquant une faible réponse émotionnelle conditionnée. Par contre, les groupes PE9 pour les intensités 0,7 et 0,8 mA ont des rapports de suppression assez proches de 0 (0,10 ± 0,15 et 0,11 ± 0,17, respectivement) indiquant une réponse émotionnelle conditionnée assez importante. Cette description est confirmée par l'ANOVA qui révèle un effet significatif du facteur Préexposition (F(1,41)=9,79, p<0,01) et de l'interaction entre ce facteur et le facteur Intensité (F(2,41)=4,56, p<0,05), mais pas du facteur Intensité (F(2,41)=1,98, ns). L'analyse *post-hoc* sur l'interaction confirme que le groupe PE9 présente un rapport de suppression significativement (p<0,01) différent de celui du groupe NPE pour l'intensité 0,6 mA, d'une part, et que les groupes PE9 pour les intensités 0,7 et 0,8 diffèrent (p<0,05 et p<0,01, respectivement) du groupe PE9 pour l'intensité 0,6 mA, d'autre part.

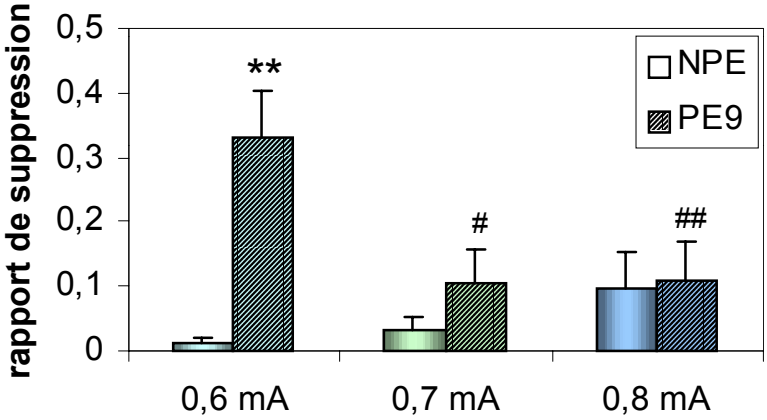


Figure 2.1 : Effet de l'intensité du choc électrique sur l'inhibition latente. Moyenne (± erreur type) du rapport de suppression. ** : p<0,01 par rapport au groupe NPE ; # : p<0,05 et ## : p<0,01 par rapport au groupe PE9 conditionné avec un choc d'intensité de 0,6 mA. *Alors que 9 présentations du son lors de la phase de préexpositon permettent d'induire de l'inhibition latente lorsque l'intensité du choc électrique administré lors de la phase de conditionnement est de 0,6 mA, cette condition de préexposition ne permet pas d'induire de l'inhibition latente pour les intensités de 0,7 et 0,8 mA.*

Discussion

Les résultats de cette expérience confirment ceux de l'expérience précédente à savoir que 9 présentations du son lors de la phase de préexposition induisent une inhibition latente lorsque la phase de conditionnement consiste en deux appariements du son avec un choc de 0,6 mA, mais surtout montrent que l'augmentation de l'intensité de ce choc entraîne une suppression de l'inhibition latente.

Ce dernier résultat montre qu'une variation du conditionnement portant sur l'intensité du choc électrique, à l'instar d'une variation portant sur le nombre d'appariement (Ruob et coll., 1998, expérience 2), peut supprimer l'inhibition latente. Weiner et collaborateurs (Weiner et coll., 1997a ; Weiner et coll., 1997c) n'ont pas observé le même phénomène en faisant varier l'intensité du stimulus inconditionnel (0,5 ou 1 mA). Cependant, bien que les auteurs ne discutent pas de cet effet, l'observation de leurs résultats (figure 4 de l'expérience 2b de Weiner et coll., 1997c) suggère que l'augmentation de l'intensité du stimulus inconditionnel réduirait l'amplitude de l'inhibition latente dans la plus faible des deux conditions de préexposition qu'ils ont utilisée (10 préexpositions) mais pas dans la plus forte (40 préexpositions). L'ensemble de ces données suggère que l'inhibition latente pourrait être

supprimée par une augmentation de l'impact du conditionnement, mais que cet effet dépendrait de la quantité de préexposition utilisée, en accord avec la position théorique selon laquelle l'inhibition latente dépend de l'impact relatif des phases de préexposition et de conditionnement (Weiner et Feldon, 1997 ; Weiner, 2003).

Les résultats obtenus dans les groupes non préexposés montrent par ailleurs que bien que la relation entre l'intensité du choc et l'amplitude de la réponse conditionnée ait été largement éprouvée (Annau et Kamin, 1961 ; Church et coll., 1967 ; Sacchetti et coll., 1999), l'augmentation de l'intensité du choc n'induit pas d'augmentation du rapport de suppression. Bien que les résultats obtenus chez les animaux des groupes préexposés soient un argument indirect montrant que les intensités de choc utilisées dans cette expérience permettent d'augmenter la force du conditionnement, l'absence de modulation de l'amplitude de la réponse conditionnée observée dans ces groupes[4] souligne les limites de l'utilisation du niveau de conditionnement des groupes non-préexposés pour inférer l'absence d'effet d'un traitement, qu'il soit pharmacologique ou lésionnel, sur le conditionnement dans une expérience d'inhibition latente, lorsque ce traitement favorise le conditionnement.

Cette expérience montrant que 9 présentations du son lors de la phase de préexposition et 2 appariements du son avec un choc de 0,6 mA induisent une inhibition latente modulable (tout au moins dans le sens d'une diminution), ces conditions ont été utilisées dans l'expérience suivante.

[4] Certainement inhérente tant au type de protocole utilisé comme discuté dans l'expérience précédente qu'à l'effet "plancher" observé avec l'intensité la plus faible.

EXPERIENCE 3 : EFFET DE LA LESION DU CORTEX ENTORHINAL SUR L'INHIBITION LATENTE DANS LA SITUATION DE REPONSE EMOTIONNELLE CONDITIONNEE

Introduction

L'implication du cortex entorhinal dans l'inhibition latente repose sur plusieurs études qui ont montrées que sa lésion excitotoxique induisait un déficit d'inhibition latente, tant dans des tâches de conditionnement aversif, qu'appétitif (Coutureau et coll., 1999 ; Oswald et coll., 2002 ; Shohamy et coll., 2000 ; Yee et coll., 1995a ; Yee et coll., 1997). Même si les lésions généralement pratiquées dans ces études sont étendues, affectant non seulement le cortex entorhinal mais également un partie du subiculum (région rétrohippocampique), les travaux menés au laboratoire (avec des lésions plus circonscrites) ont confirmé que la lésion du cortex entorhinal supprimait l'inhibition latente d'une réponse émotionnelle conditionnée (Coutureau et coll., 1999). Le but de cette expérience est de reproduire ce dernier résultat en utilisant les conditions expérimentales déterminées précédemment.

Matériel et méthodes

Animaux

Quarante rats sont utilisés dans cette expérience dont le matériel et le protocole sont similaires à ceux de l'expérience 1, à l'exception que seuls deux groupes de rats (NPE et PE9) sont constitués pour chaque condition chirurgicale.

Chirurgie

L'opération a lieu une semaine après l'arrivée des animaux au laboratoire. Les animaux sont anesthésiés par une injection intrapéritonéale de pentobarbital sodique (75 mg/kg) puis reçoivent une injection intramusculaire d'antibiotique (0,3 ml d'Extencilline 2,4 M.U.I.). Le scalp du rat est épilé puis l'animal est fixé dans un cadre stéréotaxique (Stoelting). Le rat est placé dans une couverture isotherme afin de limiter l'hypothermie. Après une injection sous cutanée d'un anesthésique local (0,1 ml de Xylocaïne) au niveau du scalp, celui-ci est nettoyé (Sterlane) puis incisé. Les couches protectrices du crâne sont écartées ; ce dernier étant mis à

nu et sa surface nettoyée (NaCl 0,9%) afin de visualiser l'ensemble des repères anatomiques. La barre d'incisive est ajustée de sorte que le Bregma soit situé à 1 mm ventralement par rapport au Lambda. Un angle médiolatéral de 15° est imposé au descendeur.

La lésion du cortex entorhinal est réalisée par une technique d'injections multiples de NMDA (Sigma, 40 mM dans du tampon phosphate pH 7,4). Le NMDA est injecté à l'aide d'une canule métallique (diamètre externe de 0,28 mm) qui est reliée, par l'intermédiaire d'un cathéter (diamètre externe de 0,3 mm), à une seringue de 10 µl (Exmire). Un pousse-seringue automatique (CMA modèle 100) permet le réglage du volume et de la vitesse d'injection. A l'aide d'une fraise de dentiste, le crâne est percé à la verticale des deux points d'injection et la canule est descendue jusqu'aux différents sites dont les coordonnées sont : A-P : -8,2 mm ; M-L : ±3,5 mm ; D-V : -7,5 ; -7 et -6 mm par rapport au Bregma. Au niveau de chacun de ces sites, 0,2 µl de NMDA est injecté à une vitesse de 0,2 µl/min. Après chaque injection, la canule est maintenue en place pendant une minute afin de permettre la diffusion du NMDA. Les animaux pseudo-opérés subissent exactement le même traitement chirurgical, y compris la descente de la canule, mais aucune injection n'est réalisée. Une fois l'opération terminée, le scalp du rat est suturé puis saupoudré de sulfamides (Exoseptoplix). Le rat est placé dans une cage de réveil maintenue sous une lampe. Les animaux sont ensuite replacés par deux dans leur cage d'habitation où ils ont accès à volonté à la nourriture et à la boisson, et ce pour une période de récupération postopératoire de 9 à 13 jours.

Vingt deux rats subissent une lésion du cortex entorhinal (ENTO) et 18 rats servent de témoins pseudo-opérés (PSEUDO).

Histologie

A l'issue des tests comportementaux, les animaux sont euthanasiés par une administration intrapéritonéale d'une dose létale de pentobarbital (120 mg/kg). La cage thoracique est alors ouverte de manière à bien dégager le système cardio-vasculaire. Après mise en place d'un clamp sur l'aorte dorsale et incision de l'oreillette droite, les animaux sont perfusés par voie intracardiaque (*via* le ventricule gauche) avec 60 ml de NaCl (0,9 %, 4°C), puis avec 60 ml de fixateur (paraformaldéhyde à 4% dans du tampon phosphate à 0,2 M, 4°C). Les rats sont alors décapités et leur cerveau délicatement prélevé puis post-fixés par immersion dans le fixateur pendant 2 heures. Les cerveaux sont ensuite transférés dans une solution cryoprotectrice (saccharose à 30% dans du PBS, 4°C) pour une durée de 48 heures. Ils sont

ensuite congelés par immersion dans de l'isopentane refroidi à -40°C par de la carboglace, puis stockés à -80°C.

Des coupes frontales de 30 µm sont réalisées à l'aide d'un cryotome et montées sur des lames gélatinées. Pour le contrôle histologique de l'étendue de la lésion, une coupe sur 5 est prélevée au niveau du cortex entorhinal (de -6,3 mm à -8,3 mm par rapport au Bregma). Des coupes au niveau de l'hippocampe (environ -3 mm par rapport au Bregma) sont également récupérées.

Pour les coupes prélevées au niveau du cortex entorhinal, un marquage des corps cellulaires est réalisé par coloration au violet de Crésyl suivant la technique détaillée en annexe. Pour les coupes prélevées au niveau de l'hippocampe, une révélation de l'acétylcholinestérase (AChE ; protocole en annexe) est réalisée afin de mettre en évidence le bourgeonnement des fibres cholinergiques septo-hippocampiques consécutif à la lésion du cortex entorhinal (Naumann et coll., 1997).

L'étendue et la localisation des lésions au niveau du cortex entorhinal (violet de Crésyl), mais également la présence ou non d'un bourgeonnement cholinergique au niveau de l'hippocampe (AChE) sont évaluées sous microscope optique. La lésion est schématiquement représentée sur des planches adaptées de l'atlas stéréotaxique de Paxinos et Watson (Paxinos et Watson, 1998).

Analyse des données

L'évolution pondérale des animaux au cours des 11 jours de restriction hydrique fait l'objet d'une analyse de variance (ANOVA) à deux facteurs (facteur Jour à 11 niveaux et facteur Lésion à 2 niveaux [PSEUDO ; ENTO]). Pour la phase d'entraînement, les variables LAP et LAT_{10} font l'objet d'une analyse de variance (ANOVA) à deux facteurs (facteur Lésion à 2 niveaux [PSEUDO ; ENTO] et facteur Séance à 4 niveaux). Pour la phase de réentraînement, les variables LAP et LAT_{10} font l'objet d'une analyse de variance (ANOVA) à trois facteurs (facteur Préexposition à 2 niveaux [NPE ; PE9], facteur Lésion à 2 niveaux [PSEUDO ; ENTO] et facteur Séance à 2 niveaux). Pour la phase de test, la variable R, ainsi que les variables LAT_{10} et $N_{pré\text{-}son}$, font l'objet d'une analyse de variance (ANOVA) à deux facteurs (facteur Préexposition à 2 niveaux [NPE ; PE9] et facteur Lésion à 2 niveaux [PSEUDO ; ENTO]. Les différences entre les groupes sont établies par des comparaisons *post-hoc* avec le test de Newman-Keuls.

Résultats

Vérifications histologiques

Onze rats ont été écartés de l'analyse statistique des résultats sur la base des critères suivants : atteinte importante du subiculum et/ou du gyrus denté et/ou du champ CA1 de l'hippocampe (n=7), atteinte unilatérale (n=3), atteinte insuffisante du cortex entorhinal (n=1). A l'issue de la vérification histologique, les effectifs de chacun des groupes sont les suivants : NPE-PSEUDO (n=9), PE9-PSEUDO (n=9), NPE-ENTO (n=5) et PE9-ENTO (n=6).

Comme l'illustre la figure 3.1 B, l'injection de NMDA produit une perte des neurones dans la région entorhinale. Typiquement, la lésion s'étend des plans -6,3 mm à -8,3 mm par rapport au Bregma (Figure 3.1 A). La lésion affecte préférentiellement la partie médiane du cortex entorhinal, mais la partie latérale est également touchée. Les couches superficielles sont systématiquement touchées. Il faut également noter une atteinte subiculaire ventrale et postérieure dans certains cas. Aucune atteinte n'est observée chez les animaux PSEUDO.

Le niveau d'acétylcholinestérase chez les animaux ENTO a été comparé à celui des animaux PSEUDO au niveau de la couche moléculaire du gyrus denté. Chez les animaux ENTO, la couche moléculaire interne présente un marquage plus intense (Figure 3.1 C) qui révèle un bourgeonnement de fibres septo-hippocampiques consécutivement à l'atteinte du cortex entorhinal médian. Dans certains cas, on observe également un bourgeonnement au niveau de la couche moléculaire externe du gyrus denté, attestant d'une atteinte du cortex entorhinal latéral.

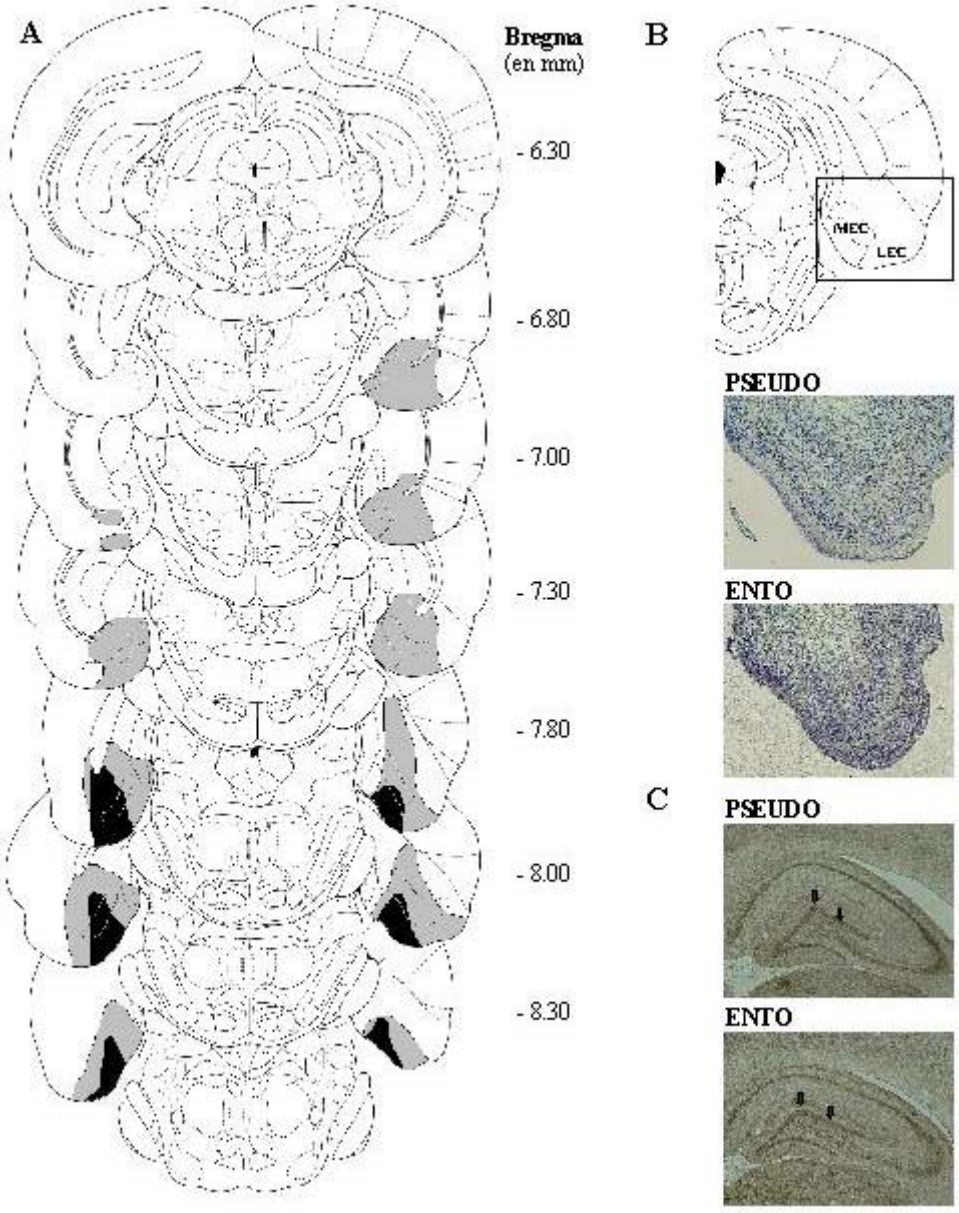


Figure 3.1 : A. Représentation schématique de la plus petite (en noir) et de la plus grande (en gris) étendue des lésions du cortex entorhinal. Les coordonnées des sections frontales correspondent à la distance par rapport au Bregma (d'après Paxinos et Watson, 1998). B. Microphotographies prises au niveau de la zone encadrée de coupes colorées au violet de Crésyl provenant d'un rat PSEUDO et d'un rat ENTO. C. Microphotographies prises au niveau de l'hippocampe de coupes marquées à l'acétylcholinestérase provenant d'un rat PSEUDO et d'un rat ENTO.

Evolution pondérale

Consécutivement à la restriction hydrique, les animaux présentent une légère chute de poids (moins de 20 grammes) au cours des premiers jours puis se stabilisent au cours des jours suivants, l'évolution pondérale des animaux PSEUDO et ENTO étant identique. Ceci est confirmé par l'ANOVA qui révèle un effet significatif du facteur Jour ($F(10,270)=131,15$, $p<0,0001$), mais pas du facteur Lésion ($F(1,27)=0,16$, ns), ni de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(10,270)=0,68$, ns).

Entraînement

Au cours de cette phase, les animaux, aussi bien PSEUDO que ENTO, apprennent rapidement la réponse opérante (lapement), comme l'indiquent d'une part l'augmentation du nombre de lapements au cours des sessions et d'autre part la diminution de la latence mise par l'animal pour effectuer les dix premiers lapements. L'ANOVA confirme la description de ces données puisqu'elle révèle un effet significatif du facteur Séance ($F(3,81)=3,80$, $p<0,05$ et $F(3,81)=13,38$, $p<0,0001$ pour les variables LAP et LAT_{10}, respectivement), mais pas du facteur Lésion ($F(1,27)=1,02$, ns et $F(1,27)=0,26$, ns pour les variables LAP et LAT_{10}, respectivement), ni de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(3,81)=0,26$, ns et $F(3,81)=0,40$, ns pour les variables LAP et LAT_{10}, respectivement).

Réentraînement

Au cours de cette phase, les animaux des différents groupes ne diffèrent pas entre eux et ne semblent pas présenter de peur du contexte, comme le confirme l'ANOVA qui ne révèle aucun effet des facteurs Séance ($F(1,25)=0,84$, ns et $F(1,25)=0,78$, ns pour les variables LAT10 et LAP, respectivement), Préexposition ($F(1,25)=0,00$, ns et $F(1,25)=3,79$, $p=0,06$ pour les variables LAT_{10} et LAP, respectivement), Lésion ($F(1,25)=0,19$, ns et $F(1,25)=2,79$, ns pour les variables LAT_{10} et LAP, respectivement), ni d'aucune des interactions entre ces facteurs.

Test

Le jour de test, les latences (LAT_{10}) des différents groupes ne diffèrent pas comme le confirme l'ANOVA qui ne révèle pas d'effet significatif du facteur Préexposition ($F(1,25)=0,87$, ns), ni du facteur Lésion ($F(1,25)=0,84$, ns), ni de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(1,25)=0,08$, ns).

Durant la période pré-son, le nombre de lapements $N_{pré\text{-}son}$ effectué par les animaux des différents groupes ne diffère pas comme le confirme l'ANOVA qui ne révèle aucun effet du facteur Préexposition ($F(1,25)=0,94$, ns), ni du facteur Lésion ($F(1,25)=0,73$, ns), ni de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(1,25)=2,12$, ns). Cette absence de différence entre les différents groupes nous autorise à utiliser le rapport de suppression comme variable dépendante pour mesurer la réponse conditionnée.

Les résultats (rapport de suppression) obtenus pour les différents groupes sont présentés à la figure 3.2. Tous les groupes NPE présentent des rapports de suppression proches de 0,2 (0,21 ± 0,04 pour tous les groupes confondus) indiquant une réponse émotionnelle conditionnée moyenne, et tous les groupes PE9 présentent un rapport de suppression proche de 0,4 (0,41 ± 0,04 pour tous les groupes confondus) indiquant une très faible réponse émotionnelle conditionnée. Cette description est confirmée par l'ANOVA qui révèle un effet significatif du facteur Préexposition ($F(1,25)=10,27$, $p<0,01$), mais pas du facteur Lésion ($F(1,25)=0,12$, ns), ni de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(1,25)=0,80$, ns).

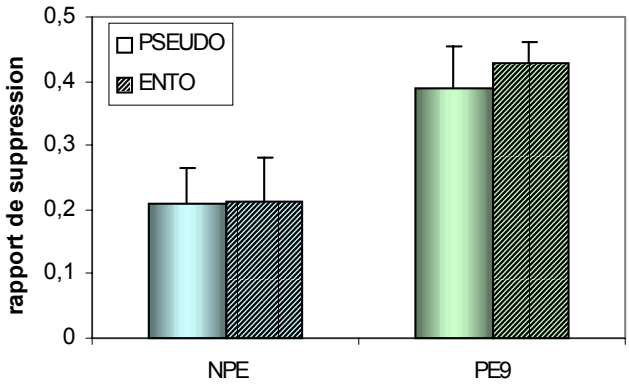


Figure 3.2 : Effet de la lésion du cortex entorhinal sur l'inhibition latente. Moyenne (± erreur type) du rapport de suppression. *La lésion du cortex entorhinal n'affecte pas l'inhibition latente induite par 9 présentations du son lors de la phase de préexposition.*

Discussion

Les résultats de cette expérience montrent que, contrairement aux résultats d'études précédentes, la lésion du cortex entorhinal n'induit pas de déficit d'inhibition latente.

Bien que des différences méthodologiques puissent rendre compte de cette divergence de résultat par rapport aux données obtenues par d'autres équipes (comme par exemple le type de conditionnement utilisé pour évaluer l'inhibition latente ou l'étendue des lésions effectuées ; Oswald et coll., 2002 ; Shohamy et coll., 2000 ; Yee et coll., 1995a ; Yee et coll., 1997), l'absence d'effet de la lésion du cortex entorhinal est plus surprenante par rapport aux résultats obtenus précédemment dans l'équipe (Coutureau et coll., 1999). En effet, tant les animaux, que la technique chirurgicale et le délai séparant la lésion du début de la passation du test sont similaires dans ces deux expériences. De plus, l'utilisation de coordonnées identiques dans ces deux études laisse présager des lésions comparables. Bien que l'utilisation de plans de coupes différents entre ces deux études (horizontal dans l'étude de Coutureau et coll., 1999 *vs* verticale dans l'étude présente) rende difficile la comparaison de la localisation et de l'étendue des lésions effectivement obtenues, nos données histologiques (étendue des lésions et bourgeonnement cholinergique) ont confirmé que nos lésions étaient satisfaisantes.

Un examen attentif des résultats obtenus dans les groupes pseudo-opérés de ces deux expériences suggère que, bien que dans les deux cas la préexposition induise de l'inhibition latente, la suppression de réponse induite par l'appariement son-choc est plus intense dans l'étude de Coutureau et collaborateurs (Coutureau et coll., 1999) que dans l'étude présente, comme l'attestent les rapports moyens de suppression obtenus dans les groupes non préexposés (moyenne de 0,07 et de 0,2 respectivement). Nous émettons l'hypothèse que la divergence de résultats obtenus dans ces deux études dépendrait d'un niveau de conditionnement différent et que la lésion du cortex entorhinal n'induirait de déficit d'inhibition latente que lorsque le conditionnement est fort. Bien que l'influence des paramètres du conditionnement d'un protocole d'inhibition latente sur les effets délétères de lésions cérébrales n'ait pas été signalée à notre connaissance, la modification de ces paramètres affecterait les effets délétères de l'administration systémique d'amphétamine sur l'inhibition latente. En effet, il a été montré que le déficit d'inhibition latente induit par amphétamine était atténué en utilisant une intensité plus faible du stimulus inconditionnel, *i.e.* en réduisant la force du conditionnement (Killcross et coll., 1994).

Le niveau de conditionnement obtenu dans l'ensemble des groupes non préexposés de cette étude (rapport de suppression de 0,2 et de 0,2) est surprenant si l'on se réfère au niveau moyen de conditionnement obtenu dans les mêmes groupes des expériences 1 (rapport de suppression de 0,06) et 2 (rapport de suppression de 0,01). Parmi les facteurs ayant pu affecter l'amplitude de la réponse émotionnelle conditionnée entre les expériences 1 et 2 et l'expérience présente, en dehors d'un effet délétère de l'intervention chirurgicale sur le conditionnement que l'absence d'un groupe d'animaux non-opérés ne nous permet pas d'évaluer, des variations dans le niveau de familiarité des animaux avec l'expérimentateur entre les expériences 1 et 2 et l'expérience 3 pourraient constituer un facteur non négligeable. L'augmentation de la manipulation des animaux consécutive à l'intervention chirurgicale et au suivi de leur état sanitaire postopératoire, en augmentant leur familiarité avec l'expérimentateur pourrait réduire l'amplitude du conditionnement par rapport aux conditions "standard" de manipulation des animaux utilisées dans les expériences 1 et 2. En effet, de nombreuses données montrent qu'un stress aigu ou l'administration d'agoniste des récepteurs à la corticostérone augmente l'amplitude de la réponse conditionnée (Shors et coll., 1992 ; Shors, 2001 ; Zorawski et Killcross, 2002), alors qu'à l'inverse, des agonistes des récepteurs aux benzodiazepines (composés anxiolytiques) peuvent avoir des effets délétères sur la réponse émotionnelle conditionnée (Stanhope et Dourish, 1996).

D'autres expériences menées par la suite en utilisant rigoureusement les mêmes conditions expérimentales ayant montré, pour le même expérimentateur, une variabilité trop importante (rapport de suppression variant en moyenne entre 0,01 et 0,31), un nouveau paramétrage de la situation a été effectué afin d'obtenir un niveau de réponse émotionnelle conditionnée qui soit plus stable d'une expérience à l'autre, et ce afin de tester, par la suite, l'hypothèse selon laquelle la lésion du cortex entorhinal affecte l'inhibition latente lorsque le conditionnement est fort.

EXPERIENCE 4 : DETERMINATION DE NOUVEAUX PARAMETRES POUR L'INHIBITION LATENTE DANS LA SITUATION DE REPONSE EMOTIONNELLE CONDITIONNEE

Introduction

Cette expérience a été motivée par la variabilité trop importante du niveau de conditionnement du groupe non préexposé observée dans l'expérience précédente par rapport aux expériences 1 et 2, mais également dans d'autres expériences non présentées dans ce mémoire. Afin d'obtenir un niveau de conditionnement plus robuste dans ce groupe, plutôt que d'augmenter l'intensité du choc électrique (l'expérience 2 ayant montré qu'une intensité de 0,7 mA avec deux appariements suffisait à supprimer totalement l'inhibition latente), nous avons choisi d'augmenter le nombre d'appariements son-choc (passant de 2 à 4 appariements). L'utilisation de 4 appariements permet, par ailleurs, d'obtenir une meilleure discrimination entre le son et le contexte dans lequel ce son est présenté (Marchand, communication personnelle). Nous avons également déterminé les conditions d'intensité de choc et de nombre de présentations du son lors de la phase de préexposition permettant d'obtenir une inhibition latente dans ces conditions d'appariements. De plus, afin de vérifier que la suppression de réponse observée dans les groupes non préexposés reflétait bien le lien associatif entre le son et le choc, nous avons également évalué l'amplitude de la suppression de réponse induite par le son 1) dans des groupes pour lesquels le son et le choc ont été systématiquement non appariés, et ceci, pour chaque condition d'intensité et 2) dans un groupe d'animaux ne recevant pas de choc électrique lors de la phase de conditionnement. Par ailleurs, la plupart des protocoles d'inhibition latente développés par d'autres groupes utilisant des stimuli conditionnels de plus courte durée que celle utilisée au laboratoire (Weiner et coll., 1994 ; Weiner et coll., 1995 ; Weiner et coll., 1996), nous avons opté pour une durée de stimulus sonore de 10 secondes au lieu de 30 secondes.

Enfin, dans la perspective de pouvoir analyser ultérieurement les effets de la lésion du cortex entorhinal sur le comportement des animaux lors de la phase de préexposition et sur l'évolution de l'acquisition du lien associatif son-choc lors de la phase de conditionnement (ce que ne permet pas de faire le protocole dit "*off-baseline*" que nous utilisons), nous avons également, dans cette expérience, quantifié le comportement des animaux lors de ces deux phases en utilisant un système d'analyse d'image (Marchand et coll., 2003). Ainsi, lors de la phase de préexposition, nous avons quantifié l'activité des animaux au cours de la séance

comme mesure de leur familiarisation au contexte que représente la cage de conditionnement dépourvue de biberon ainsi que l'activité induite par la présentation du son comme mesure de la réponse inconditionnée au son (Holland, 1979). Lors de la phase de conditionnement, nous avons quantifié l'immobilité comportementale ("*freezing*") comme réponse conditionnée aux indices associés au choc (contexte avec un son ; Holland, 1979), le *freezing* étant défini comme l'absence de tout mouvement du corps de l'animal, à l'exception des mouvements respiratoires (Fanselow et Bolles, 1979).

Matériel et méthodes

Animaux

Cent trente sept rats sont utilisés dans cette expérience conduite en trois réplications.

Matériel

Le matériel est identique à celui de l'expérience 1, excepté pour ce qui suit. Afin d'évaluer l'activité ou le *freezing* des animaux, chaque enceinte est équipée d'une mini-caméra vidéo noir et blanc fixée au-dessus de la boîte de conditionnement. Comme l'indique la figure 4.1, chaque caméra est reliée à un multiplexeur de type "quad" (Playback Quad, modèle QS-MX II, Computar) permettant la saisie simultanée de quatre images. Ce "quad" est lui-même connecté à un ordinateur (processeur Intel céléron cadencé à 667 MHz, 524 Mo de RAM) par l'intermédiaire d'une carte vidéo (Scion LG3) et à un magnétoscope VHS standard (Mitsubishi, M320). Des macro-commandes réalisées au sein du logiciel Scion image permettent de recueillir, de segmenter et de traiter les images vidéos (pour une explication plus approfondie du fonctionnement du système d'analyse d'image, voir Marchand et coll., 2003).

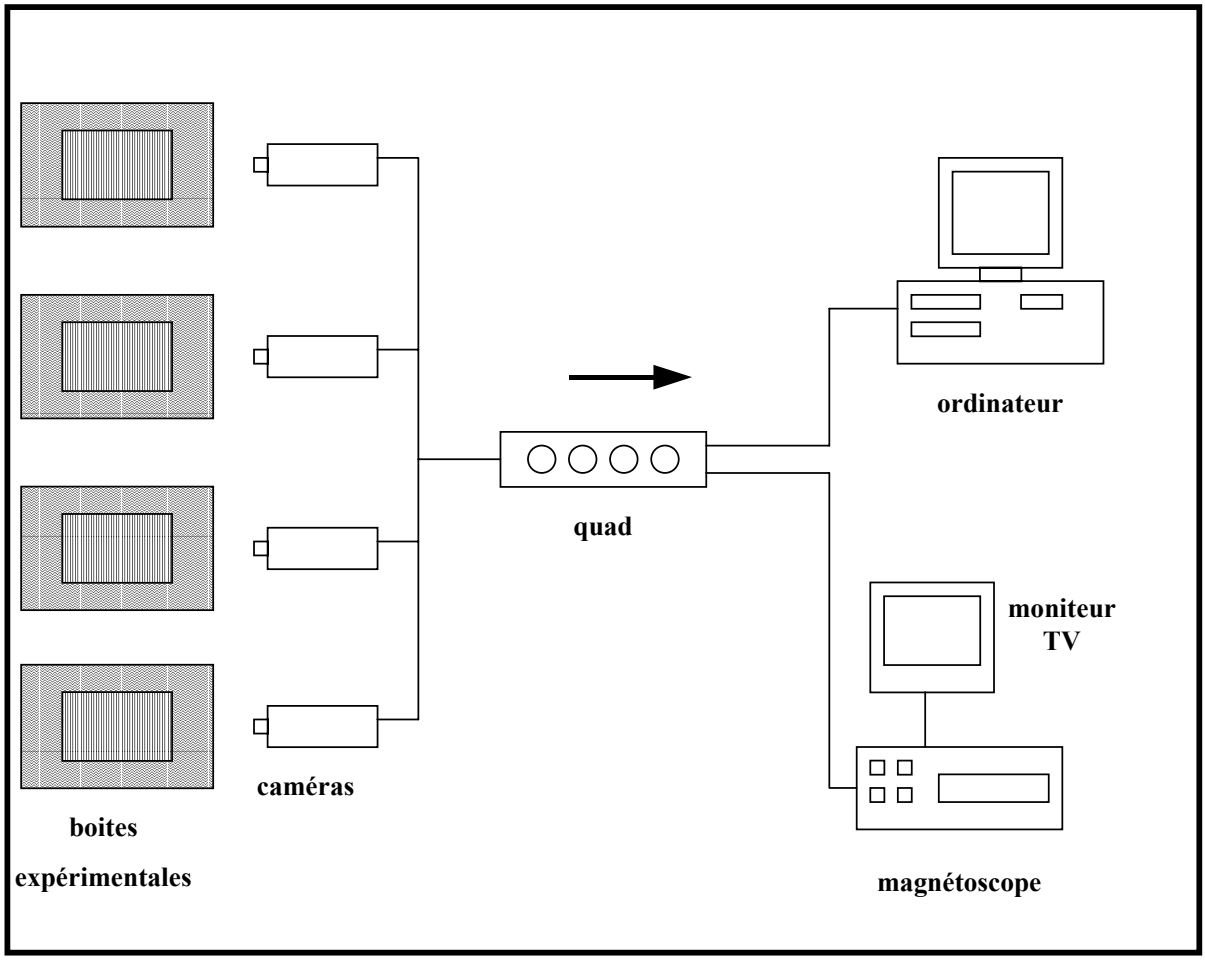


Figure 4.1 : Représentation schématique du dispositif vidéo permettant de recueillir les données. Les images acquises *via* les caméras sont transmises au "quad" permettant la saisie simultanée de quatre images. Les informations sont ensuite transmises à un ordinateur qui traite les données, ainsi qu'à un magnétoscope. Le moniteur TV relié au magnétoscope permet l'observation directe du déroulement des séances. La flèche indique le sens du flux de données.

Protocole

Le protocole employé est identique à celui de l'expérience 1, excepté pour les phases de préexposition, de conditionnement et de test.

Préexposition (J6)

Quatre groupes de rats sont constitués. Les animaux préexposés (groupes PE20, PE40 et PE60) reçoivent, respectivement 20, 40 ou 60 présentations du son (4 kHz, 10 dB, 10 s) avec un intervalle inter-stimuli variable (intervalle minimum : 70, 30 ou 10 s, respectivement).

Tous les autres animaux, dont ceux du groupe non-préexposé (groupe NPE), sont simplement placés dans la boîte de conditionnement pour une même durée de 40 minutes.

Pendant cette phase, les animaux sont filmés afin de pouvoir procéder à l'analyse de l'activité (activité moyenne par minute, minute par minute) des groupes NPE, PE20, PE40 et PE60 ainsi que de l'activité des groupes préexposés avant, pendant et après chaque présentation du son (périodes de 10 s dans chaque cas).

Conditionnement (J7)

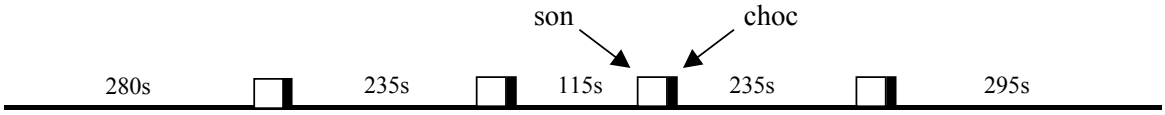
Pour les groupes appariés, à savoir les groupes NPE, PE20, PE40 et PE60, le son (même caractéristique que pour la phase de préexposition) est apparié à quatre reprises avec un choc électrique (0,8 s) selon le décours temporel schématisé à la figure 4.2 A, l'intensité du choc électrique délivré étant soit de 0,4 mA (groupes NPE 0,4 mA ; PE20 0,4 mA ; PE40 0,4 mA et PE60 0,4 mA ; n=8 par groupe), soit de 0,5 mA (groupes NPE 0,5 mA ; PE20 0,5 mA ; PE40 0,5 mA et PE60 0,5 mA ; n=8 par groupe), soit de 0,6 mA (groupes NPE 0,6 mA ; PE20 0,6 mA ; PE40 0,6 mA et PE60 0,6 mA ; n=9-10 par groupe).

Pour les groupes non-appariés (NA), un même son et un choc électrique de même durée que celui utilisé dans les groupes appariés ont chacun été présentés quatre fois, mais de manière explicitement non appariée (voir le décours temporel schématisé à la figure 4.2 B). L'intensité du choc électrique délivré est soit de 0,4 mA (groupe NA 0,4 mA ; n=8), soit de 0,5 mA (groupe NA 0,5 mA ; n=8), soit de 0,6 mA (groupe NA 0,6 mA ; n=10).

Pour le groupe son (SON ; n=10), un même son que celui utilisé pour les autres groupes a été présenté quatre fois, le décours temporel de ces présentations étant identique à celui utilisé pour les groupes appariés.

Pour cette phase, les animaux sont filmés afin de pouvoir procéder à l'analyse du *freezing* au cours du conditionnement (*freezing* moyen par minute, minute par minute) et ceci pour l'ensemble des groupes.

A : appariés



B : non appariés

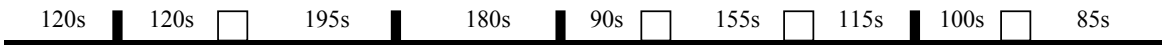


Figure 4.2 : Représentation schématique du décours temporel de la présentations des sons et des chocs lors de la phase de conditionnement pour les groupes appariés (A) et non appariés (B).

Test (J10)

Le démarage du programme de test dépend de l'activité de lapement de l'animal : 90 s après le début de la séance, l'animal doit effectuer au moins 50 lapements dans une période de 30 secondes. Dès lors, l'animal doit effectuer 200 lapements, et le programme comptabilise le temps mis par l'animal pour effectuer les 25 derniers lapements (Pre_{25}). A l'issue de cette période, le son (mêmes caractéristiques que précédemment) est activé pour une durée de 5 minutes ; le temps mis par l'animal pour effectuer les 25 premiers lapements durant le son (Son_{25}) est alors mesuré. Une fois le son terminé, le rat reste dans la boîte de conditionnement durant trois minutes. Par ailleurs, en plus de ces variables, la latence mise par l'animal pour effectuer 10 lapements (LAT_{10}) après le début de la session est également mesurée.

Analyse des données

Pour la phase de préexposition, l'évolution au cours de la séance de l'activité globale des animaux fait l'objet d'une analyse de la variance (ANOVA) à deux facteurs (facteur Groupe à 4 niveaux [NPE ; PE20 ; PE40 ; PE60] et facteur Bloc à 40 niveaux [chaque niveau correspondant à un bloc d'une minute]). De plus, pour chaque groupe préexposé, l'activité des animaux avant, pendant et après chaque présentation du son fait l'objet d'une ANOVA à deux facteurs (facteur Période à 3 niveaux [Avant ; Pendant ; Après] et facteur Evénement à 20

niveaux [groupe PE20], 40 niveaux [groupe PE40] ou 60 niveaux [Groupe PE60]). Cette dernière analyse a également été effectuée, à titre de contrôle, dans le groupe NPE (sur la base de 20 événements).

Pour la phase de conditionnement, l'évolution du *freezing* au cours de la séance fait l'objet d'une ANOVA à trois facteurs (facteur Groupe à 4 niveaux [NPE ; PE20 ; PE40 ; PE60], facteur Intensité à 3 niveaux [0,4 mA ; 0,5 mA ; 0,6 mA] et facteur Bloc à 20 niveaux [chaque niveau correspondant à un bloc d'une minute]). L'évolution de cette même variable dans le groupe SON et dans le groupe NA fait également, à titre de contrôle, l'objet d'une ANOVA à un facteur (facteur Bloc à 20 niveaux [chaque niveau correspondant à un bloc d'une minute]).

Pour la phase de réentraînement, les variables LAP et LAT_{10} font l'objet de deux ANOVA à trois facteurs (facteur Groupe à 2 [NPE ; NA] ou 4 [NPE ; PE20 ; PE40 ; PE60] niveaux, facteur Intensité à 3 niveaux [0,4 mA ; 0,5 mA ; 0,6 mA] et facteur Séance à 2 niveaux).

Pour la phase de test, la variable $R_{25}=Pré_{25}/(Pré_{25}+Son_{25})$, ainsi que les variables LAT_{10} et $Pré_{25}$, font l'objet de deux ANOVA à deux facteurs (facteur Groupe à 2 [NPE ; NA] ou 4 [NPE ; PE20 ; PE40 ; PE60] niveaux et facteur Intensité à 3 niveaux [0,4 mA ; 0,5 mA ; 0,6 mA]).

Pour chacune des phases, les différences entre les groupes sont établies par des comparaisons *post-hoc* avec le test de Newman-Keuls.

Résultats

Préexposition

L'évolution de l'activité globale des animaux des groupes NPE, PE20, PE40 et PE60 au cours de la séance de préexposition est présentée à la figure 4.3. Cette activité décroît progressivement au cours de la séance et de manière comparable dans l'ensemble des groupes bien que cette décroissance semble plus marquée dans le groupe PE60, tout au moins pendant la deuxième moitié de la séance. Cette description est confirmée par l'ANOVA qui révèle un effet significatif du facteur Bloc ($F(39,3783)=131,91$, $p<0,0001$), mais pas du facteur Groupe

(F(3,3783)=0,50, ns), ni de l'interaction entre ces facteurs, bien que celle-ci soit proche d'être significative (F(117,3783)=1,20, p=0,07).

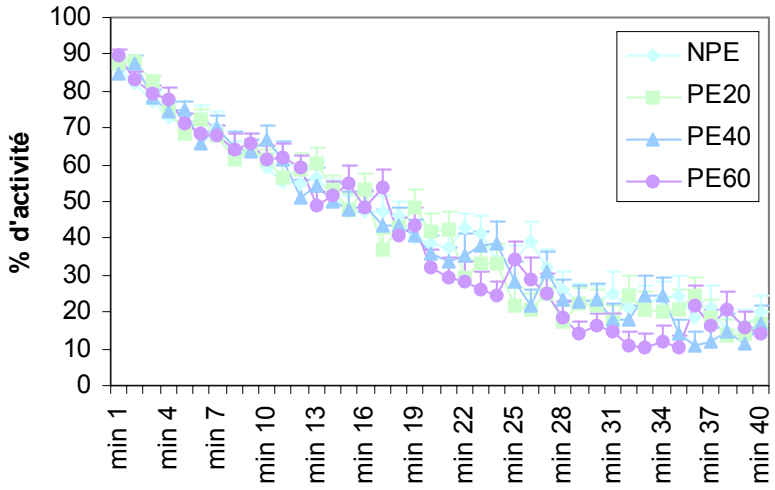


Figure 4.3 : Evolution de l'activité des animaux au cours de la phase de préexposition. Moyenne (± erreur type) du pourcentage d'activité par minute (100% : actif pendant 60 s ; 50% : actif pendant 30 s).

Lorsque le son est présenté (période Pendant), et donc pour les groupes PE20, PE40 et PE60, l'activité des animaux augmente comparativement à la période qui précède (période Avant), le niveau d'activité après le son (période Après) étant similaire à celui de la période Avant (figure 4.4). Cette description est confirmée par l'ANOVA qui révèle un effet significatif des facteurs Evénement (F(19,456)=23,71, p<0,0001 ; F(39,975)=21,60, p<0,0001 et F(59,1378)=31,20, p<0,0001 pour les groupes PE20, PE40 et PE60, respectivement), Période (F(2,48)=11,76, p<0,0001 ; F(2,50)=10,80, p<0,001 et F(2,48)=21,36, p<0,0001 pour les groupes PE20, PE40 et PE60, respectivement), mais pas de l'interaction entre ces deux facteurs (F(38,912)=1,01, ns ; F(78, 1950)=1,12, ns et F(118,2832)=1,04, ns pour les groupes PE20, PE40 et PE60, respectivement). Pour le groupe NPE, l'ANOVA révèle un effet du facteur Evénement (F(19,456)=15,40, p<0,0001), mais pas du facteur Période (F(2,48)=0,19, ns), ni de l'interaction entre ces deux facteurs (F(38,912)=0,92, ns). Les analyses *post-hoc* sur le facteur Période indiquent que, pour les groupes PE20, PE40 et PE60, la période Pendant diffère de la période Avant (p<0,01 au moins) et de la période Après (p<0,001 dans tous les cas). De plus, pour le groupe PE20, la période Après diffère de la période Avant (p<0,05).

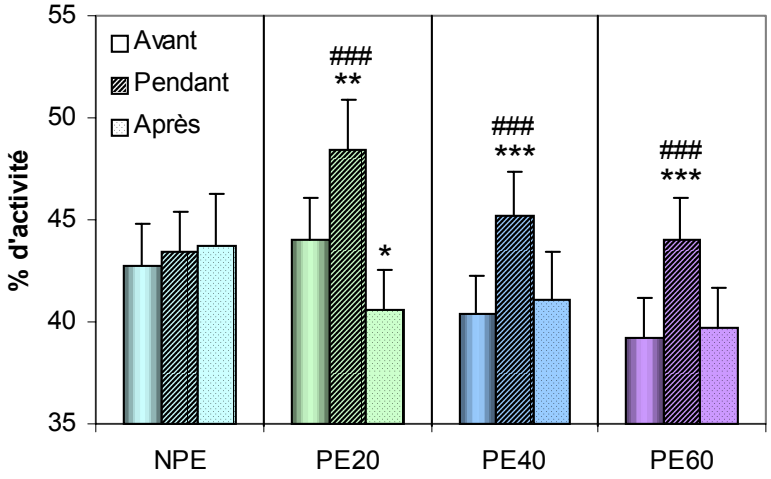


Figure 4.4 : Activité des animaux avant, pendant et après le son (périodes de 10 secondes) sur l'ensemble des événements (données du facteur Période). Moyenne (± erreur type) du pourcentage d'activité par période. * : p<0,05 ; ** : p<0,01 et *** p<0,001 par rapport à la période Avant ; ### : p<0,001 par rapport à la période Après. *L'activité des animaux augmente lorsque le son est présenté.*

Conditionnement

L'évolution du *freezing* des animaux des groupes NPE, PE20, PE40 et PE60 (pour chacune des 3 intensités) est présentée à la figure 4.5. Pour une même intensité, des résultats comparables sont obtenus dans les 4 groupes. On observe ainsi une très légère augmentation du *freezing* après la survenue du 1er, puis du 2ème choc, l'augmentation étant similaire pour l'ensemble des intensités. A partir du 3ème choc, l'augmentation de *freezing* est plus marquée pour l'intensité 0,6 mA. Cette description est confirmée par l'ANOVA qui révèle un effet significatif des facteurs Intensité ($F(2,89)=31,52$, $p<0,0001$), Bloc ($F(19,1691)=84,28$, $p<0,0001$), mais pas du facteur Groupe ($F(3,89)=1,71$, ns), ni d'aucune interaction impliquant le facteur Groupe (les autres étant significatives). Les effets simples de l'interaction[5] entre les facteurs Groupe et Bloc analysés séparément pour chacune des trois intensités n'ont révélé aucune différence entre les groupes NPE, PE20, PE40 et PE60. Les effets simples de l'interaction entre les facteurs Intensité et Bloc analysés séparément pour chacun des quatre groupes ont confirmé l'effet du facteur Intensité dans tous les cas, à l'exception du groupe

[5] Le moyen le plus simple de considérer une interaction de deuxième ordre est de considérer l'interaction entre deux des facteurs à différents niveaux du troisième facteur. Nous parlerons d'effets simples de l'interaction. Par ailleurs, "rien n'empêche […] d'examiner les effets simples de l'interaction en l'absence d'une interaction d'ordre supérieur significative" (Howell, 1998, p499).

PE40. L'analyse *post-hoc* sur ce facteur indique que l'intensité 0,6 diffère des deux autres ($p<0,05$ au moins).

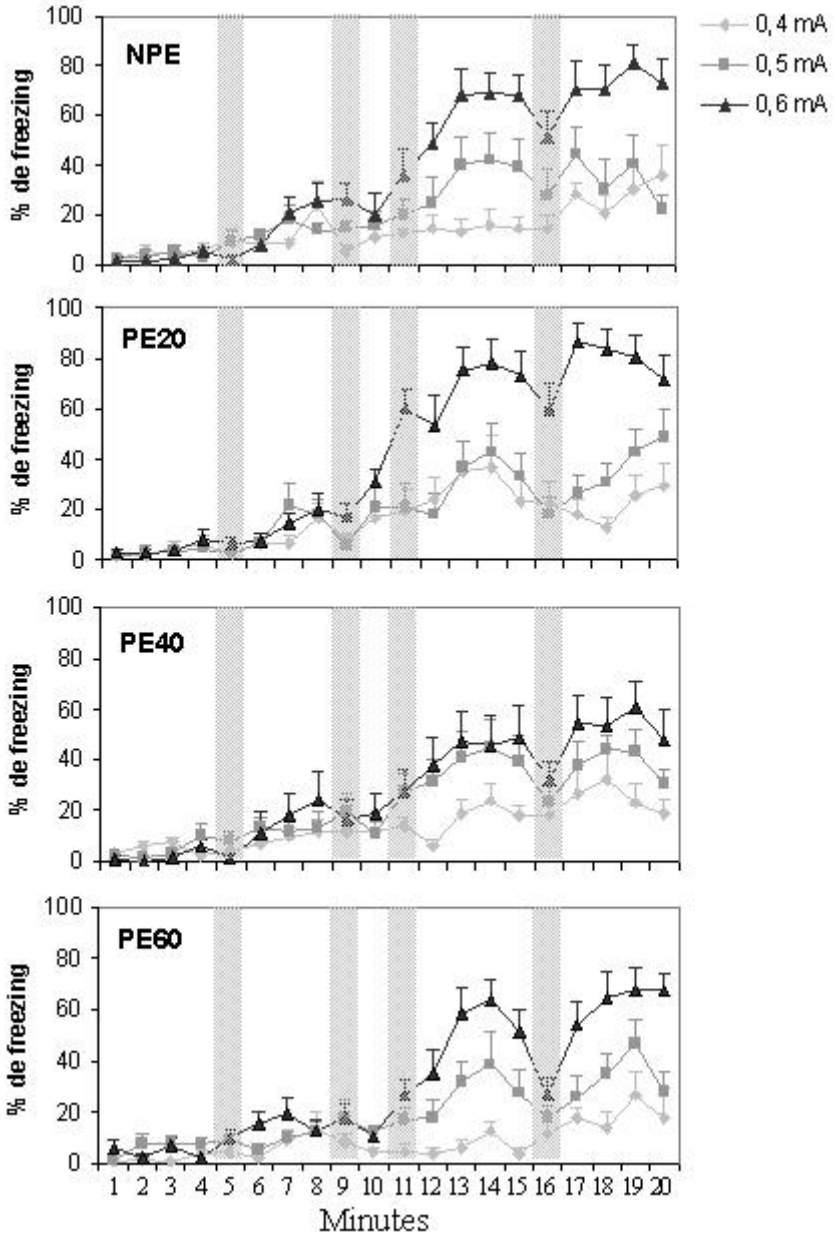


Figure 4.5 : Evolution du *freezing* des animaux au cours de la phase de conditionnement. Moyenne (± erreur type) du pourcentage de *freezing* par minute. Les chocs sont présentés dans les minutes 5, 9, 11 et 16 (zones grisées).

L'évolution du *freezing* des animaux des NA (pour chacune des 3 intensités) est présentée à la figure 4.6. Le *freezing* augmente progressivement au cours de la séance et de manière assez comparable pour les différentes intensités, bien que cette croissance semble plus marquée pour l'intensité 0,5 mA. Cette description est confirmée par l'ANOVA qui révèle un effet significatif du facteur Bloc ($F(19,437)=22,03$, $p<0,0001$), mais pas du facteur Intensité ($F(2,23)=1,97$, ns), ni de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(38,437)=0,97$, ns).

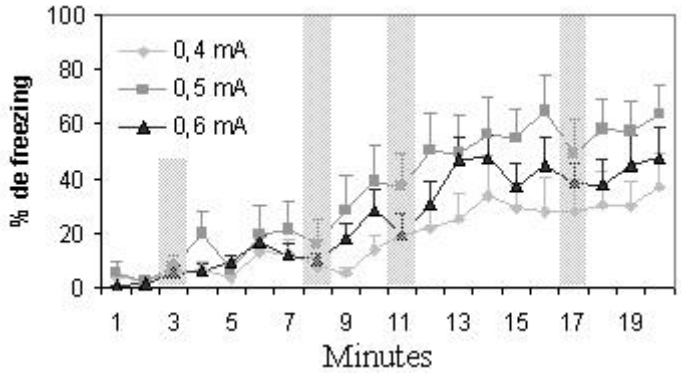


Figure 4.6 : Evolution du *freezing* des animaux au cours de la phase de conditionnement. Moyenne (± erreur type) du pourcentage de *freezing* par minute. Les chocs sont présentés dans les minutes 3, 8, 11 et 17 (zones grisées).

L'évolution du *freezing* des animaux des groupes SON est présentée à la figure 4.7. Le *freezing* n'augmente que très légèrement ($F(19,171)=4,31$, $p<0,0001$). Il est intéressant de noter qu'une évolution similaire a été observée pour le groupe NPE lors des 20 premières minutes de la phase de préexposition (données non présentées), ne mettant pas en cause la présentation du son (à 4 reprises) dans cette très légère augmentation. Après visualisation des enregistrements vidéos, il semble que celle-ci corresponde à une diminution de l'activité de l'animal et non à un véritable *freezing*.

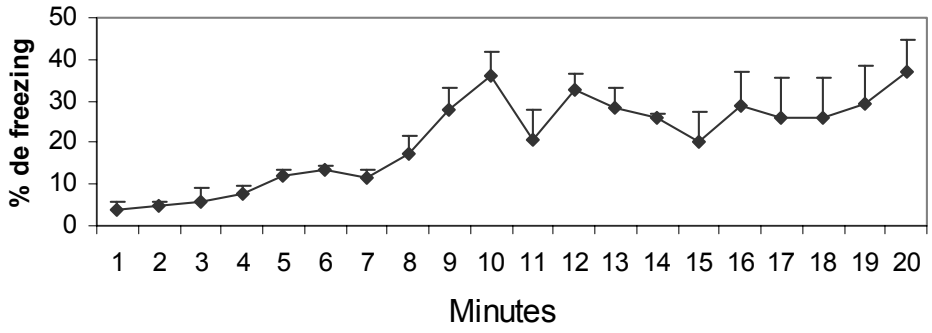


Figure 4.7 : Evolution du *freezing* des animaux au cours de la phase de conditionnement. Moyenne (± erreur type) du pourcentage de *freezing* par minute.

Réentraînement

Au cours de cette phase, les animaux des groupes NPE et NA ne diffèrent pas entre eux et ne semblent pas présenter de réaction de peur au contexte, comme le confirme l'ANOVA qui ne révèle aucun effet des facteurs Séance ($F(1,43)=2,06$, ns et $F(1,43)=4,05$, ns pour les variables LAT_{10} et LAP, respectivement), Groupe ($F(1,43)=0,37$, ns et $F(1,43)=0,46$, ns pour les variables LAT_{10} et LAP, respectivement), Intensité ($F(2,43)=0,66$, ns et $F(2,43)=0,70$, ns pour les variables LAT_{10} et LAP, respectivement), ni d'aucune des interactions entre ces facteurs. De même, les animaux des groupes NPE, PE20, PE40 et PE60 ne diffèrent pas entre eux et ne semblent pas présenter de peur du contexte, comme le confirme l'ANOVA qui ne révèle aucun effet des facteurs Séance ($F(1,89)=5,13$, $p<0,05$ (problème avec un animal à J8) et $F(1,89)=1,97$, ns pour les variables LAT_{10} et LAP, respectivement), Groupe ($F(3,89)=0,63$, ns et $F(3,89)=0,86$, ns pour les variables LAT_{10} et LAP, respectivement), Intensité ($F(2,89)=0,66$, ns et $F(2,89)=0,14$, ns pour les variables LAT_{10} et LAP, respectivement), ni d'aucune des interactions entre ces facteurs.

Test

Les animaux ayant une valeur $Pré_{25}$ supérieure à 10 sont exclus de l'analyse (n=8).

Le jour de test, les latences (LAT_{10}) des groupes NPE et NA ne diffèrent pas comme le confirme l'ANOVA qui ne révèle pas d'effet significatif du facteur Groupe ($F(1,43)=0,99$, ns) ni du facteur Intensité ($F(2,43)=0,87$, ns) ni de l'interaction entre ces deux facteurs

(F(2,43)=0,80, ns). De même, les groupes NPE, PE20, PE40 et PE60 ne diffèrent pas comme le confirme l'ANOVA qui ne révèle pas d'effet significatif du facteur Groupe (F(3,84)=0,58, ns), ni du facteur Intensité (F(2,84)=0,57, ns) ni de l'interaction entre ces deux facteurs (F(6,84)=0,88, ns).

Durant la période pré-son, les latences $Pré_{25}$ des groupes NPE et NA ne diffèrent pas comme le confirme l'ANOVA qui révèle un effet du facteur Intensité (F(2,43)=4,27, p<0,05), mais pas du facteur Groupe (F(1,43)=0,94, ns), ni de l'interaction entre ces deux facteurs (F(2,43)=0,96, ns). Alors que l'analyse *post-hoc* sur le facteur Intensité indique une différence entre l'intensité 0,6 mA et les deux autres intensités (p<0,05 dans les deux cas), l'analyse *post-hoc* de comparaisons multiples entre groupes ne révèle aucune différence entre les groupes. De même, les groupes NPE, PE20, PE40 et PE60 ne diffèrent pas comme le confirme l'ANOVA qui ne révèle pas d'effet significatif du facteur Groupe (F(3,84)=0,07, ns), ni du facteur Intensité (F(2,84)=0,44, ns), ni de l'interaction entre ces deux facteurs (F(6,84)=0,61, ns). Cette absence de différence entre les différents groupes nous autorise à utiliser le rapport de suppression comme variable dépendante pour mesurer la réponse conditionnée.

Les résultats (rapport de suppression, R_{25}) obtenus pour les groupes NPE et NA sont présentés à la figure 4.8. Les groupes NPE présentent des rapports proches de 0 (0,13 ± 0,02 ; 0,14 ± 0,04 et 0,08 ± 0,02 pour les intensités 0,4 ; 0,5 et 0,6 mA, respectivement) indiquant une forte réponse émotionnelle conditionnée. Alors que le groupe NA pour l'intensité 0,6 mA présente un rapport proche de 0 (0,11 ± 0,01) indiquant une forte réponse émotionnelle conditionnée, les groupes NA pour les intensités 0,4 et 0,5 mA ont des rapports de suppression assez proches de 0,2 (0,22 ± 0,05 et 0,21 ± 0,05, respectivement) indiquant une réponse émotionnelle conditionnée moyenne. Il est intéressant de noter que le groupe SON présente un rapport de suppression de 0,28 ± 0,04. Cette description est confirmée par l'ANOVA qui révèle un effet significatif du facteur Groupe (F(1,43)=6,42, p<0,05), du facteur Intensité (F(2,43)=4,52, p<0,05), mais pas de l'interaction entre ces deux facteurs (F(2,43)=0,59, ns). L'analyse *post-hoc* sur le facteur Intensité indique que les groupes avec l'intensité 0,6 mA diffèrent des autres (p<0,05 dans les deux cas). L'analyse *post-hoc* de comparaisons multiples entre groupes ne révèle aucune différence.

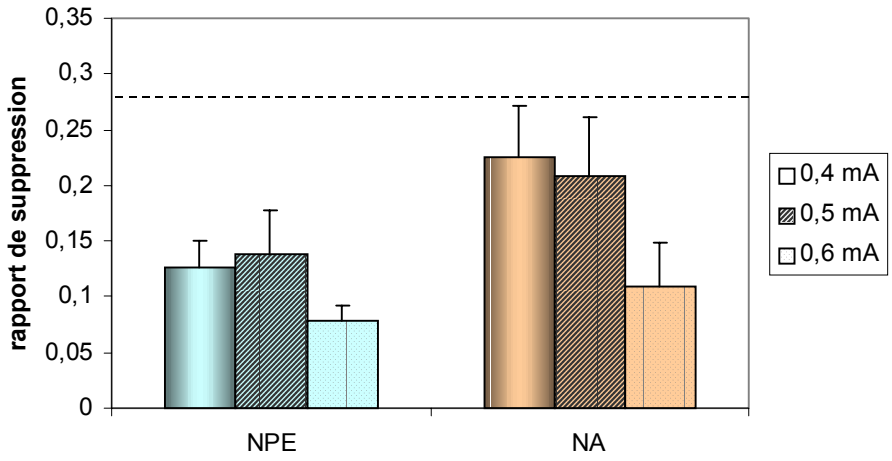


Figure 4.8 : Effet de l'intensité du choc électrique sur la réponse émotionnelle conditionnée chez des animaux appariés (NPE) et non appariés (NA). Moyenne (± erreur type) du rapport de suppression. La ligne en pointillés représente le rapport de suppression du groupe SON. *Pour les intensités de chocs de 0,4 et 0,5 mA, les groupes NA présentent des rapports de suppresion comparables à celui du groupe SON, alors qu'à 0,6 mA ce rapport est proche de celui du groupe NPE, ce qui suggère que seules les intensités de 0,4 et 0,5 mA permettent d'obtenir une réponse conditionnée sélective au son, l'intensité de 0,6 mA produisant un pseudo-conditionnement.*

Les résultats (rapport de suppression, R_{25}) obtenus pour les groupes NPE, PE20, PE40 et PE60 sont présentés à la figure 4.9. Les groupes NPE présentent des rapports proches de 0 (0,13 ± 0,02 ; 0,14 ± 0,04 et 0,08 ± 0,02 pour les intensités 0,4 ; 0,5 et 0,6 mA, respectivement) indiquant une forte réponse émotionnelle conditionnée. Pour l'intensité 0,4 mA, les groupes PE20, PE40 et PE60 présentent des rapports proches de 0,4 (0,40 ± 0,05 ; 0,29 ± 0,06 et 0,39 ± 0,06, respectivement), indiquant une faible réponse émotionnelle conditionnée. Pour l'intensité 0,5 mA, les groupes PE20, PE40 et PE60 présentent des rapports proche de 0,3 (0,30 ± 0,07 ; 0,21 ± 0,06 et 0,24 ± 0,06, respectivement), indiquant une réponse émotionnelle conditionnée relativement faible. Pour l'intensité 0,6 mA, les groupes PE20, PE40 et PE60 présentent des rapports proches de 0 (0,07 ± 0,01 ; 0,14 ± 0,05 et 0,13 ± 0,04, respectivement), indiquant une forte réponse émotionnelle conditionnée. Cette description est confirmée par l'ANOVA qui révèle un effet significatif du facteur Groupe ($F(3,84)=5,90$, $p<0,01$), du facteur Intensité ($F(2,84)=17,27$, $p<0,0001$), et une tendance pour l'interaction entre ces deux facteurs ($F(6,84)=2,01$, $p=0,07$). L'analyse *post-hoc* de comparaisons multiples entre groupes indique que pour les groupes PE20 0,4 mA et PE60 0,4 mA diffèrent du groupe NPE 0,4 mA ($p<0,01$ dans les deux cas) et des groupes PE20 0,6 mA et PE60 0,6 mA ($p<0,001$ et $p<0,01$, respectivement).

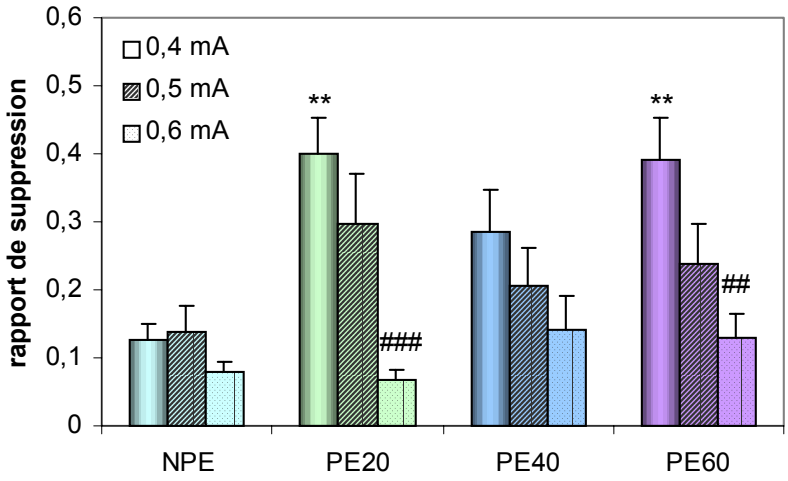


Figure 4.9 : Effet de l'intensité du choc électrique sur l'inhibition latente. Moyenne (± erreur type) du rapport de suppression. ** : p<0,01 par rapport au groupe NPE 0,4 mA ; ## : p<0,01 et ### : p<0,001 par rapport aux groupes PE20 0,4 mA et PE60 0,4 mA, respectivement. *Alors que 20 et 60 présentations du son lors de la phase de préexpositon permettent d'induire de l'inhibition latente lorsque l'intensité du choc électrique administré lors de la phase de conditionnement est de 0,4 mA, la même condition de préexposition ne permet pas d'induire de l'inhibition latente pour les intensités de 0,5 et 0,6 mA.*

Discussion

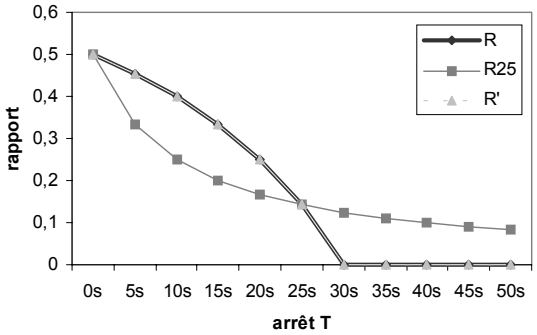
Les résultats de cette expérience montrent que 4 appariements son-choc conduisent à un niveau de conditionnement robuste, et que seules les intensités 0,4 et 0,5 mA permettent d'obtenir une réponse conditionnée sélective au son, l'intensité 0,6 mA produisant un pseudo-conditionnement. De plus, dans la condition 0,4 mA, mais pas avec les deux autres intensités, la présentation du son lors de la phase de préexposition diminue l'amplitude de la réponse émotionnelle conditionnée par rapport à celle obtenue lorsque ce stimulus n'a pas été préalablement présenté ; l'amplitude de cette diminution, *i.e.* de l'inhibition latente, étant comparable avec 20 et 60 présentations du son.

La présentation du son, lors de la phase de préexposition, produit une augmentation de l'activité de l'animal, pouvant résulter vraisemblablement d'une réponse de sursaut (Holland, 1979). Moyennée sur l'ensemble des événements (20, 40 ou 60 pour les groupes PE20, PE40 et PE60, respectivement), cette augmentation semble être similaire pour les différents groupes, et ce malgré un nombre d'événements différent et, de fait, des intervalles inter-stimuli différents. L'habituation de cette réponse n'a cependant pu être évaluée, contrairement

à l'habituation à la boîte de test qui s'est révélée être similaire pour l'ensemble des groupes (préexposés ou non), à l'exception d'une tendance pour une habituation plus marquée pour le groupe PE60. Cette diminution plus rapide de l'activité dans ce groupe pourrait résulter d'une augmentation du temps de sommeil (Campeau et Watson, 1997).

Suite à la présentation des chocs, lors de la phase de conditionnement, les animaux présentent une réponse de *freezing*. Cette réponse (que ce soit son évolution temporelle ou le niveau atteint en fin de séance) dépend de l'intensité du choc (Holland, 1979), la réponse étant plus forte avec l'intensité 0,6 mA qu'avec les deux autres intensités, et ce dans tous les groupes à l'exception des animaux des groupes PE40 et NA. L'absence d'effet de la préexposition au son sur cette mesure doit être considérée avec précaution, en raison d'une part de l'absence d'inhibition latente aux intensités de 0,5 et 0,6 mA, et d'autre part du très faible niveau de *freezing* pour l'intensité 0,4 mA (effet plancher). Il est d'ailleurs intéressant de noter que le niveau de *freezing* obtenus avec l'intensité 0,4 mA est comparable à celui observé dans le groupe ne recevant pas de choc, soulevant un questionnement vis à vis de cette mesure (réponse conditionnée aux indices associés aux chocs ou simple diminution de l'activité des animaux). Quant aux raisons de l'absence de gradation de la réponse en fonction de l'intensité chez les groupes PE40 et NA, elles restent à être élucidées.

Concernant les résultats obtenus lors du test, il est important de noter, avant tout, que le rapport de suppression utilisé dans cette expérience, R_{25}, présente une évolution légèrement différente de celui utilisé dans les expériences précédentes, R. Il est cependant possible de calculer un rapport R' présentant une évolution similaire au précédent. Ce calcul, basé sur l'hypothèse selon laquelle un rat en réponse au son s'arrête de laper pendant une durée T déterminée par Son_{25}-$Pré_{25}$ et qu'il reprend un rythme de lapement normal après cet arrêt, est le suivant : $R'=(30+Prè_{25}-Son_{25})/(60+Pré_{25}-Son_{25})$. Une illustration des résultats théoriques obtenus pour ces différents rapports avec des animaux dont le rythme de lapement est de 150 lapements en 30 secondes est présentée à la figure suivante.



Ainsi, le rapport de consommation R_{25} de 0,28 obtenu pour le groupe SON correspondrait à un rapport R de 0,42. De même, le rapport R_{25} de 0,08 obtenu pour le groupe NPE 0,6 mA correspondrait à un rapport R de 0.

Lorsque le son et le choc sont présentés (lors du conditionnement) de façon non-appariée (groupe NA), l'association son-choc ne devrait pas avoir lieu, et de fait, la présentation ultérieure du son (lors du test) devrait conduire à un résultat comparable à celui du groupe SON. Ceci est vérifié avec les intensités 0,4 et 0,5 mA, mais pas avec l'intensité 0,6 mA. Pour ce dernier groupe, il est possible d'envisager que la présentation du son active une représentation du contexte, cette dernière ayant été associée au choc. Par contre, lorsque le son et le choc sont explicitement appariés (groupe NPE), on observe une forte réponse émotionnelle conditionnée. Celle-ci ne dépend pas de l'intensité du choc, vraisemblablement en raison d'un effet "plancher". Donc, au vu des résultats des groupes NPE et NA, il peut être conclu que la suppression conditionnée observée pour les intensités 0,4 et 0,5 mA résulte d'un conditionnement explicite au son, et non d'un pseudo-conditionnement. Cependant, seule la condition de faible intensité (0,4 mA) permet d'obtenir une inhibition latente (groupes PE20 et PE60). L'absence d'inhibition latente observée avec les deux autres intensités, et ce malgré un nombre assez conséquent de présentations du stimulus lors de la phase de préexposition, pourrait résulter de l'utilisation d'un nombre d'appariements supérieur à celui généralement utilisé (4 *vs* 2 dans notre cas, 5 *vs* 2 dans Ruob et coll., 1998 ; Weiner et coll., 1997b).

Cette expérience montrant que 20 et 60 présentations du son lors de la phase de préexposition et 4 appariements du son avec un choc de 0,4 mA induisent une inhibition latente, nous avons sélectionné la condition de 20 préexpositions pour l'expérience suivante, les effets d'une préexposition trop importante pouvant difficilement être compensés par un traitement (De la Casa et coll., 1993).

EXPERIENCE 5 : EFFET DE LA LESION DU CORTEX ENTORHINAL SUR L'INHIBITION LATENTE DANS LA SITUATION DE REPONSE EMOTIONNELLE CONDITIONNEE (NOUVEAUX PARAMETRES)

Introduction

En utilisant les conditions expérimentales retenues dans l'expérience précédente (4 appariements entre un son de 10 secondes et un choc de 0,4 mA), nous avons testé les effets de la lésion du cortex entorhinal sur l'inhibition latente induite par 20 présentations du son lors de la phase de préexposition, celle-ci ayant conduit à une inhibition latente robuste dans l'expérience précédente. Par ailleurs, l'expérience 3 ayant montré qu'une inhibition latente robuste (induite par 9 présentations du son) n'était pas affectée par la lésion, nous avons également inclu dans cette expérience une condition de préexposition plus faible, à savoir 5 présentations du son.

Matériel et méthodes

Animaux

Soixante six rats sont utilisés dans cette expérience dont le matériel et le protocole sont identiques à celui de l'expérience précédente, à l'exception que seuls trois groupes de rats (NPE, PE5 et PE20 ; intervalle inter-stimuli variable avec un minimum de 115 ou 25 secondes ; durée de la séance de préexposition de 20 min ; intensité du choc électrique de 0,4 mA) sont constitués pour chaque condition chirurgicale (n=10-12 par groupe). Par ailleurs, le programme pour la phase de test a été légèrement modifié afin, d'une part, de vérifier que le niveau de lapement est élevé avant la présentation du son (si l'animal effectue les 25 derniers lapements avant le déclenchement du son en plus de 10 secondes, le son n'est pas déclenché et l'animal doit à nouveau effectuer 200 lapements) et, d'autre part, de déterminer le nombre de lapements effectués dans les 10 secondes qui précédent ($N_{pré\text{-}son10}$) et qui suivent (N_{son10}) le déclenchement du son, de manière à calculer un rapport de suppression semblable à celui utilisé dans les expériences 1 à 3.

Chirurgie

La technique opératoire est similaire à celle de l'expérience 3, excepté pour les points suivants. La barre d'incisive est ajustée de sorte que le Bregma soit situé au même niveau que le Lambda (position dite "*flat skull*"). De plus, aucun angle médiolatéral n'est imposé au descendeur. Le NMDA est injecté à l'aide d'une micropipette en verre (étirée de telle manière à obtenir un diamètre externe d'environ 0,06 mm au bout) qui est reliée, par l'intermédiaire d'un cathéter (diamètre externe de 0,3 mm), à une seringue de 10 µl (Exmire). Les coordonnées des différents sites d'injections sont :

- site 1 : A-P : -7,0 mm ; M-L : ±5,1 mm ; D-V : -8 mm
- site 2 : A-P : -7,6 mm ; M-L : ±5,1 mm ; D-V : -7 mm
- site 3 : A-P : -8,3 mm ; M-L : ±4,6 mm ; D-V : -5 mm

par rapport au Bregma. Au niveau de chacun de ces sites, 0,3 µl de NMDA est injecté à une vitesse de 0,2 µl/min. Après chaque injection, la canule est maintenue en place pendant 3 minutes afin de permettre la diffusion du NMDA. Les animaux pseudo-opérés subissent exactement la même technique chirurgicale, y compris la descente de la micropipette, mais aucune injection n'est réalisée.

Trente six rats subissent une lésion du cortex entorhinal (ENTO) et 30 rats servent de témoins pseudo-opérés (PSEUDO).

Analyse des données

Pour la phase de préexposition, l'évolution au cours de la séance de l'activité globale des animaux fait l'objet d'une analyse de la variance (ANOVA) à trois facteurs (facteur Groupe à 3 niveaux [NPE ; PE5 ; PE20], facteur Lésion à 2 niveaux [PSEUDO ; ENTO] et facteur Bloc à 20 niveaux [chaque niveau correspondant à un bloc d'une minute]). De plus, en ce qui concerne les animaux des groupes préexposés, leur activité avant, pendant et après chaque présentation du son fait l'objet d'une ANOVA à trois facteurs (facteur Période à 3 niveaux [Avant ; Pendant ; Après], facteur Lésion à 2 niveaux [PSEUDO ; ENTO] et facteur Evénement à 5 niveaux [groupe PE5] ou 20 niveaux [groupe PE20]). Cette dernière analyse a également été effectuée, à titre de contrôle, dans le groupe NPE (sur une base de 5 événements).

Pour la phase de conditionnement, l'évolution du *freezing* au cours de la séance fait l'objet d'une ANOVA à trois facteurs (facteur Groupe à 3 niveaux [NPE ; PE5 ; PE20], facteur Lésion à 2 niveaux [PSEUDO ; ENTO] et facteur Bloc à 20 niveaux [chaque niveau correspondant à un bloc d'une minute]).

Pour la phase de réentraînement, les variables LAP et LAT_{10} font l'objet d'une ANOVA à trois facteurs (facteur Groupe à 3 niveaux[NPE ; PE5 ; PE20], facteur Lésion à 2 niveaux [PSEUDO ; ENTO] et facteur Séance à 2 niveaux).

Pour la phase de test, la variable $R_{10}=N_{son10}/(N_{son10}+N_{pré\text{-}son10})$, ainsi que les variables LAT_{10} et $N_{pré\text{-}son10}$, font l'objet d'une ANOVA à deux facteurs (facteur Groupe à 3 niveaux [NPE ; PE5 ; PE20] et facteur Lésion à 2 niveaux [PSEUDO ; ENTO]).

Pour chacune des phases, les différences entre les groupes sont analysées par des comparaisons *post-hoc* avec le test de Newman-Keuls.

Résultats

Vérification histologique

Dix rats ont été écartés de l'analyse statistique des résultats sur la base des critères suivants : atteinte importante du subiculum et/ou du gyrus denté et/ou du champ CA1 de l'hippocampe (n=8), atteinte unilatérale (n=2). De plus, 2 rats sont morts avant l'analyse histologique. A l'issue de la vérification histologique, les effectifs de chacun des groupes sont les suivants : NPE-PSEUDO (n=10), PE5-PSEUDO (n=10), PE20-PSEUDO (n=10), NPE-ENTO (n=8), PE5-ENTO (n=9) et PE20-ENTO (n=7).

Comme l'illustre la figure 5.1 B, l'injection de NMDA produit une perte des neurones dans la région entorhinale, et également une perte tissulaire dans certains cas. Typiquement, la lésion s'étend des plans -6,3 mm à -8,3 mm par rapport au Bregma (Figure 5.1 A). La lésion affecte à la fois la partie médiane et la partie latérale du cortex entorhinal. Les couches superficielles sont systématiquement touchées, les couches profondes étant également atteintes dans la majorité des cas. Il faut également noter une atteinte du présubiculum, du

parasubiculum et du subiculum ventral dans certains cas. Aucune atteinte n'est observée chez les animaux PSEUDO.

Le niveau d'acétylcholinestérase chez les animaux ENTO a été comparé à celui des animaux PSEUDO et ce au niveau de la couche moléculaire du gyrus denté. Chez les animaux ENTO, la couche moléculaire interne présente un marquage plus intense (Figure 5.1 C) qui révèle un bourgeonnement de fibres septo-hippocampiques consécutivement à l'atteinte du cortex entorhinal médian. On observe également, dans la plupart des cas, un bourgeonnement au niveau de la couche moléculaire externe du gyrus denté, attestant d'une atteinte du cortex entorhinal latéral.

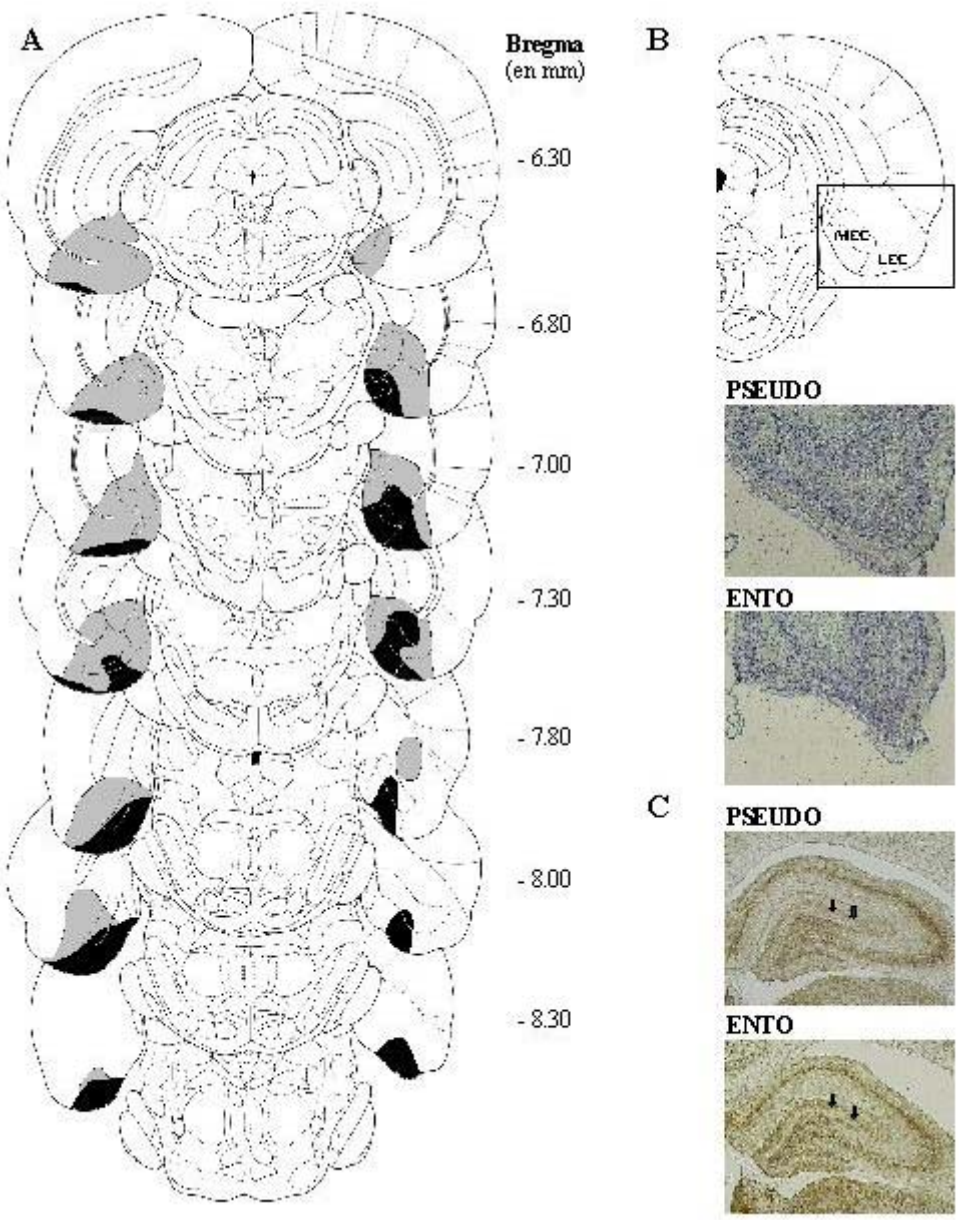


Figure 5.1 : A. Représentation schématique de la plus petite (en noir) et de la plus grande (en gris) étendue des lésions du cortex entorhinal. Les coordonnées des sections frontales correspondent à la distance par rapport au Bregma (d'après Paxinos et Watson, 1998). B. Microphotographies prises au niveau de la zone encadrée de coupes colorées au violet de Crésyl provenant d'un rat PSEUDO et d'un rat ENTO. C. Microphotographies prises au niveau de l'hippocampe de coupes marquées à l'acétylcholinestérase provenant d'un rat PSEUDO et d'un rat ENTO.

Préexposition

L'évolution de l'activité globale des animaux des différents groupes est présentée à la figure 5.2. Cette activité décroît progressivement au cours de la séance et de manière comparable dans l'ensemble des groupes bien que cette décroissance semble plus marquée dans le groupe PE20-ENTO, tout au moins pendant la deuxième moitié de la séance. Cette description est confirmée par l'ANOVA qui révèle un effet significatif du facteur Bloc ($F(19,912)=32,71$, $p<0,0001$), Préexposition ($F(2,48)=7,68$, $p<0,01$), mais pas du facteur Lésion ($F(1,48)=0,14$, ns). Les interactions de premier ordre ne sont pas significatives, à l'exception de l'interaction entre le facteur Préexposition et le facteur Bloc ($F(38,912)=2,18$, $p<0,0001$). L'interaction de deuxième ordre étant significative ($F(38,912)=1,73$, $p<0,01$), les effets simples de l'interaction entre les facteurs Préexposition et Bloc ont été analysés séparément pour chacun des deux groupes lésionnels, les effets simples de l'interaction entre les facteurs Groupe et Bloc analysés séparément pour chacune des trois préexpositions n'ayant révélé aucune différence entre les animaux PSEUDO et ENTO. L'ANOVA pour le groupe PSEUDO révèle un effet du facteur Bloc ($F(19,513)=19,21$, $p<0,0001$), mais pas du facteur Préexposition ($F(2,27)=1,17$, ns), ni de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(38,513)=1,21$, ns). L'ANOVA pour le groupe ENTO révèle un effet des facteurs Bloc ($F(19,399)=14,84$, $p<0,0001$), Préexposition ($F(2,21)=6,84$, $p<0,01$) ainsi que de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(38,399)=2,60$, $p<0,0001$). L'analyse *post-hoc* sur le facteur Préexposition indique que les animaux du groupe PE20 présentent une activité plus faible que celles des animaux NPE ($p<0,01$) et des animaux PE5 ($p<0,05$). L'analyse *post-hoc* sur l'interaction indique que, pour le groupe NPE, seule la minute18 diffère de la minute 1 ($p<0,01$), pour le groupe PE5, seules les minutes 18 et 19 différent de la minute 1 ($p<0,001$ et $p<0,05$), et pour le groupe PE20, toutes les minutes à partir de la minute 9 diffèrent de la minute 1 ($p<0,01$ au moins).

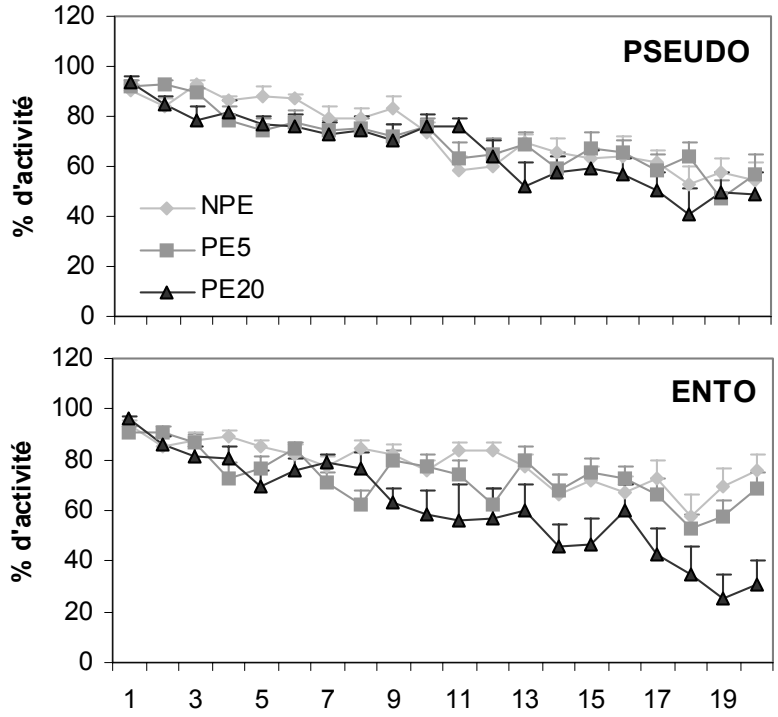


Figure 5.2 : Evolution de l'activité des animaux au cours de la phase de préexposition. Moyenne (± erreur type) du pourcentage d'activité par minute.

Pour le groupe PE5, l'activité des animaux n'est pas modifiée pendant la présentation du son, mais diminue après celui-ci, cet effet semblant plus marqué chez les animaux ENTO (figure 5.3). Pour le groupe PE20, aussi bien PSEUDO que ENTO, à la présentation du son (période Pendant), l'activité des animaux augmente comparativement à la période qui précède (période Avant), le niveau d'activité après le son (période Après) étant similaire à celui de la période Avant. Cette description est confirmée par l'ANOVA qui révèle un effet significatif des facteurs Evénement ($F(4,68)=2,85$, $p<0,05$ et $F(19,285)=10,08$, $p<0,0001$ pour les groupes PE5 et PE20, respectivement), Période ($F(2,34)=6,52$, $p<0,01$ et $F(2,30)=10,69$, $p<0,001$ pour les groupes PE5 et PE20, respectivement), mais pas du facteur Lésion ($F(1,17)=0,37$, ns et $F(1,15)=1,21$, ns pour les groupes PE5 et PE20, respectivement) ni d'aucune des interactions entre ces facteurs. Pour le groupe NPE, l'ANOVA révèle un effet du facteur Evénement ($F(4,64)=3,92$, $p<0,01$), mais pas du facteur Période ($F(2,32)=0,42$, ns), ni du facteur Lésion ($F(1,16)=2,75$, ns), ni d'aucune des interactions entre ces facteurs. Les analyses *post-hoc* sur le facteur Période indiquent que, pour le groupe PE5, la période Après diffère des deux autres ($p<0,01$ dans les deux cas) et que pour le groupe PE20, la période Pendant diffère de la période Avant et de la période Après ($p<0,001$ dans les deux cas). Les

résultats des analyses *post-hoc* sur l'interaction entre le facteur Période et le facteur Lésion sont illustrés à la figure 5.3.

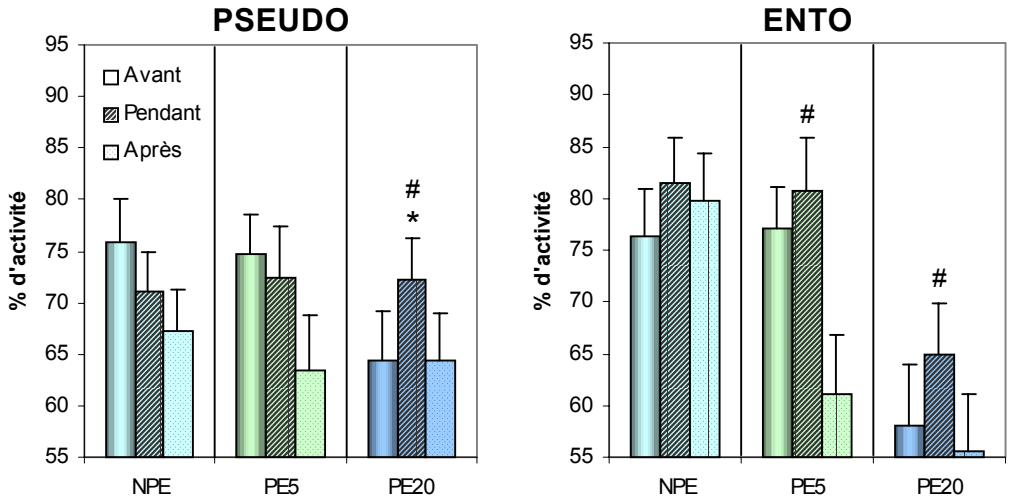


Figure 5.3 : Activité des animaux avant, pendant et après le son (période de 10 secondes) sur l'ensemble des événements (données de l'interaction entre les facteurs Période et Lésion). Moyenne (± erreur type) du pourcentage d'activité par période. * : p<0,05 par rapport à la période Avant : # : p<0,05 par rapport à la période Après. *Pour le groupe PE5, l'activité des animaux diminue après la présentation du son, notamment chez les animaux ENTO. Pour le groupe PE20, l'activité des animaux augmente pendant la présentation du son.*

Conditionnement

L'évolution du *freezing* des animaux des différents groupes est présentée à la figure 5.4. On observe une légère augmentation du *freezing* après la survenue du 2ème choc, l'augmentation étant similaire pour l'ensemble des groupes. A partir du 3ème choc, l'augmentation de *freezing* est plus marquée pour le groupe NPE, aussi bien PSEUDO que ENTO ; pour le groupe PE5, cette augmentation est observée aussi, mais uniquement chez les animaux PSEUDO. L'ANOVA révèle un effet du facteur Bloc ($F(19,912)=42,09$, $p<0,0001$), mais pas du facteur Lésion ($F(1,48)=0,34$, ns), ni du facteur Préexposition ($F(2,48)=0,67$, ns), ni d'aucune des interactions entre ces facteurs. Les effets simples de l'interaction entre les facteurs Préexposition et Bloc analysés séparément pour chacune des conditions lésionnelles n'ont révélé aucune différence entre les groupes NPE, PE5 et PE20. De même, les effets simples de l'interaction entre les facteurs Lésion et Bloc analysés séparément pour chacune des conditions de préexposition n'ont révélé aucune différence entre les groupes PSEUDO et ENTO.

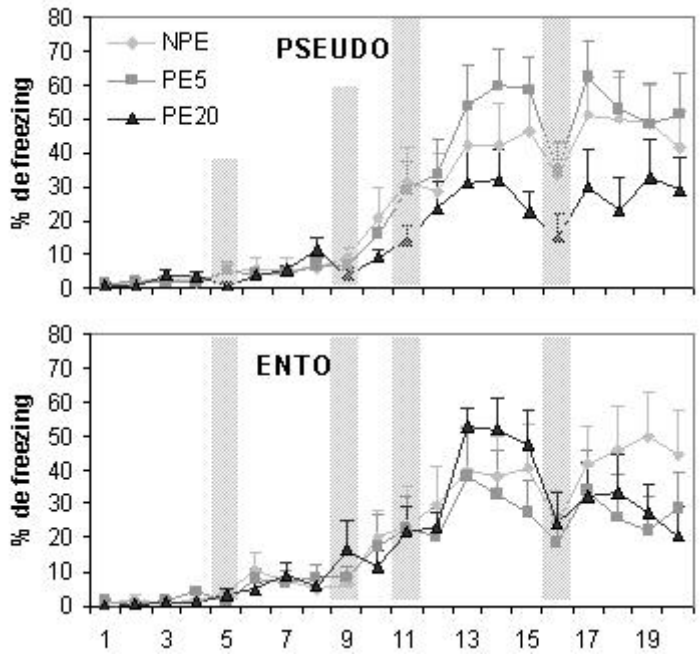


Figure 5.4 : Evolution du *freezing* des animaux au cours de la phase de conditionnement. Moyenne (± erreur type) du pourcentage de *freezing* par minute. Les chocs sont présentés dans les minutes 5, 9, 11 et 16 (zones grisées).

Réentraînement

Au cours de cette phase, les animaux des différents groupes ne semblent pas différer entre eux (sauf les groupes PE20-ENTO (J8) et PE5-ENTO (J9) concernant les latences et nombre de lapements, respectivement) et ne semblent pas présenter de réaction de peur au contexte. L'ANOVA révèle un effet des facteurs Séance ($F(1,48)=17,46$, $p<0,001$ et $F(1,48)=28,53$, $p<0,0001$ pour les variables LAT_{10} et LAP, respectivement), Groupe ($F(2,48)=3,56$, $p<0,05$ et $F(2,48)=3,83$, $p<0,05$ pour les variables LAT_{10} et LAP, respectivement), mais pas du facteur Lésion ($F(1,48)=1,94$, ns et $F(1,48)=0,49$, ns pour les variables LAT_{10} et LAP, respectivement), ni d'aucune des interactions entre ces facteurs. L'analyse *post-hoc* sur le facteur Préexposition indique que le groupe PE20 présente des latences supérieures au groupe NPE ($p<0,05$), et que le groupe PE5 présente un nombre de lapements inférieur à celui du groupe NPE ($p<0,05$). L'analyse *post-hoc* de comparaisons multiples entre groupes indique que le groupe PE20-ENTO (J8) présente une latence différente de celle des groupes NPE-PSEUDO (J8 et J9), NPE-ENTO (J9), PE5-PSEUDO (J9), PE5-ENTO (J9) et PE20-PSEUDO

(J9 ; $p<0,05$ au moins), et que le groupe PE5-ENTO (J9) présente un nombre de lapements différent de celui des groupes NPE-PSEUDO (J8), NPE-ENTO (J8), PE5-ENTO (J8) et PE20-PSEUDO (J8 ; $p<0,05$ au moins).

Test

Le jour du test, les latences (LAT_{10}) des différents groupes ne diffèrent pas comme le confirme l'ANOVA qui ne révèle pas d'effet significatif du facteur Préexposition ($F(2,48)=1,32$, ns), ni du facteur Lésion ($F(1,48)=0,40$, ns), ni de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(2,48)=0,20$, ns).

Durant la période pré-son, le nombre de lapements $N_{pré\text{-}son10}$ effectué par les animaux des différents groupes ne diffèrent pas comme le confirme l'ANOVA qui ne révèle pas d'effet significatif du facteur Préexposition ($F(2,48)=0,13$, ns), ni du facteur Lésion ($F(1,48)=0,06$, ns), ni de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(2,48)=0,83$, ns). Cette absence de différence entre les différents groupes nous autorise à utiliser le rapport de suppression comme variable dépendante pour mesurer la réponse conditionnée.

Les résultats (rapport de suppression, R_{10}) obtenus pour les différents groupes sont présentés à la figure 5.5. Les groupes NPE présentent des rapports de suppression proches de 0 ($0,02 \pm 0,01$ et $0,02 \pm 0,01$ pour les PSEUDO et les ENTO, respectivement) indiquant une très forte réponse émotionnelle conditionnée. Les groupes PE5 présentent également des rapports proches de 0 ($0,07 \pm 0,03$ et $0,13 \pm 0,06$ pour les PSEUDO et les ENTO, respectivement) indiquant une forte réponse émotionnelle conditionnée. Le groupe PE20-PSEUDO présente un rapport de suppression proche de 0,3 ($0,28 \pm 0,06$) indiquant une faible réponse émotionnelle conditionnée. Par contre, les groupes PE20-ENTO a un rapport proche de 0 ($0,14 \pm 0,07$) indiquant une forte réponse émotionnelle conditionnée. Cette description est confirmée par l'ANOVA qui révèle un effet significatif du facteur Préexposition ($F(2,48)=8,21$, $p<0,001$), mais pas du facteur Lésion ($F(1,48)=0,78$, ns), ni de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(2,48)=2,36$, ns). L'analyse *post-hoc* de comparaisons multiples entre groupes confirme que le groupe PE20-PSEUDO présente un rapport de suppression significativement différent de celui des groupes NPE-PSEUDO et PE20-ENTO ($p<0,01$ et $p<0,05$, respectivement).

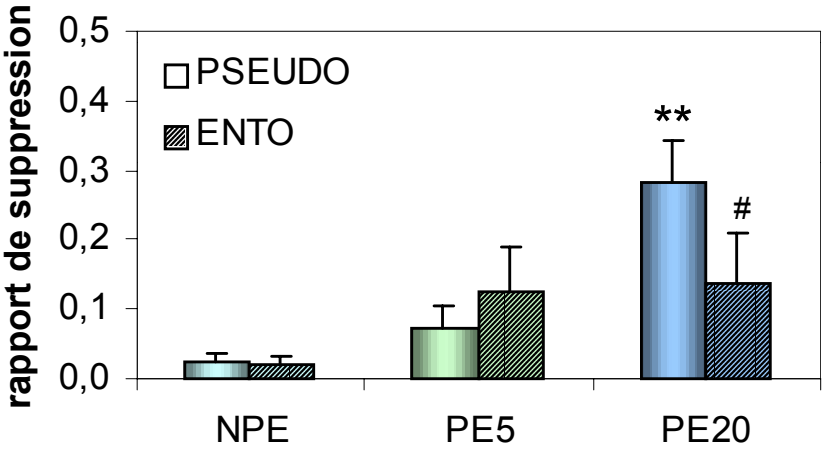


Figure 5.5 : Effet de la lésion du cortex entorhinal sur l'inhibition latente. Moyenne (± erreur type) du rapport de suppression. ** : $p<0,01$ par rapport au groupe NPE-PSEUDO et # : $p<0,05$ par rapport au groupe PE20-PSEUDO. *La lésion du cortex entorhinal supprime l'inhibition latente induite par 20 présentations du son lors de la phase de préexposition.*

Discussion

Les résultats de cette expérience montrent que 5 présentations du son ne suffisent pas à induire d'inhibition latente, contrairement à 20 présentations. De plus, la lésion du cortex entorhinal supprime l'inhibition latente induite par 20 préexpositions au son.

La lésion ne semble pas induire de modifications des variables mesurées lors des phases de préexposition et de conditionnement, à l'exception d'une diminution d'activité lors de la phase de préexposition plus marquée pour le groupe PE20-ENTO. Cette diminution plus marquée, obtenue pour le groupe PE60 dans l'expérience précédente, avait été attribuée à un assoupissement des animaux induit par la présentation du son (Campeau et Watson, 1997). On peut dès lors s'interroger sur l'efficacité de la préexposition au son chez des animaux endormis (Coenen et Drinkenburg, 2002). Cette diminution exacerbée n'est pas présente chez les animaux PSEUDO (groupe PE20), en accord avec l'expérience précédente (malgré une séance de durée différente, 20 *vs* 40 minutes). Ce résultat suggère donc que la lésion pourrait affecter le traitement du son lors de la phase de préexposition. Il est intéressant de noter que la réponse induite par la présentation du son (augmentation d'activité pour les groupes PE20) semble légèrement moins marquée chez les animaux lésés. Par contre, la réponse obtenue pour les groupes PE5, à savoir une diminution de l'activité après la présentation du son, semble plus importante chez les animaux lésés. Bien que l'habituation au son n'ait pas été

mesurée dans notre expérience, il existe plusieurs données indiquant que la lésion du cortex entorhinal n'affecte pas l'habituation à un son (Goto et coll., 2002) ou à une lumière (Oswald et coll., 2002).

Le déficit d'inhibition latente observé consécutivement à la lésion du cortex entorhinal dans cette expérience s'accorde avec notre hypothèse selon laquelle un tel déficit ne peut être mis en évidence qu'avec un niveau de conditionnement suffisamment élevé (cf. expérience 3). Malgré quelques atteintes au niveau du complexe subiculaire, il convient d'attribuer l'effet observé à l'atteinte au niveau du cortex entorhinal (Coutureau et coll., 1999), l'absence d'effet de lésions du subiculum venant conforter cette idée (Coutureau et coll., 1999 ; Oswald et coll., 2002). L'absence d'effet constaté à la suite de lésions de l'hippocampe (Coutureau et coll., 1999 ; Honey et Good, 1993 ; Shohamy et coll., 2000, mais Oswald et coll., 2002) ou des voies fimbria et fornix (Pouzet et coll., 1999 ; Weiner et coll., 1998, mais Nicolle et coll., 1989) suggèrent que le déficit induit par la lésion du cortex entorhinal n'implique pas la perte des données transitant par l'hippocampe, mais vraisemblablement d'une connexion entorhino-accumbens (Totterdell et Meredith, 1997). Des lésions sélectives de la voie perforante d'une part, et des lésions unilatérales croisées du cortex entorhinal et de la partie *shell* du noyau accumbens devraient permettre de confirmer ce point.

En résumé, cette expérience a permis de confirmer que la lésion du cortex entorhinal produit un déficit d'inhibition latente dans la situation de réponse émotionnelle conditionnée, mais apparemment uniquement lorsque le niveau de conditionnement est suffisamment élevé.

IMPLICATION DU CORTEX ENTORHINAL DANS L'INHIBITION LATENTE DANS LA SITUATION D'AVERSION GUSTATIVE CONDITIONEE

Bien que l'inhibition latente puisse être mise en évidence dans l'ensemble des préparations pavloviennes, le substrat neurobiologique impliqué dans ce phénomène pourrait être au moins partiellement dépendant du type de préparation utilisée comme nous l'avons évoqué en introduction de ce chapitre. En particulier, les divergences les plus nombreuses en ce qui concerne ce substrat sont observées entre l'inhibition latente de la peur conditionnée et celle de l'aversion gustative conditionnée, ces divergences portant sur l'implication de différentes structures cérébrales dont le septum et l'hippocampe. A l'heure actuelle, l'implication du cortex entorhinal dans l'inhibition latente de l'aversion gustative conditionnée n'a pas été étudiée. Nous avons donc vérifié si la lésion du cortex entorhinal, induisant un déficit d'inhibition latente de la réponse émotionnelle conditionnée, affectait aussi l'inhibition latente de l'aversion gustative conditionnée. A cette fin, dans une première expérience (expérience 6), nous avons mis au point le protocole d'inhibition latente dans une situation d'aversion gustative conditionnée, puis, dans une seconde expérience (expérience 7), nous avons évalué les effets de la lésion du cortex entorhinal sur cette variable comportementale.

EXPERIENCE 6 : MISE EN EVIDENCE DE L'INHIBITION LATENTE DANS LA SITUATION D'AVERSION GUSTATIVE CONDITIONNEE

Introduction

Dans l'aversion gustative conditionnée (inhibition latente), la quantité de préexposition au stimulus conditionnel peut être contrôlée en modifiant le volume de solution sucrée consommée (De la Casa et Lubow, 1995), la concentration de la solution sucrée (Rodriguez et Alonso, 2002), ou encore le nombre de séances où la solution sucrée est présentée (Turgeon et coll., 1998). Dans ce dernier cas, le plus fréquemment utilisé, l'ampleur de l'inhibition latente est directement en relation avec le nombre de séances de préexposition (Fenwick et coll., 1975). Dans la présente expérience, nous avons fait varier la quantité de préexposition au stimulus conditionnel en faisant varier le nombre de séances de préexposition et évalué les conséquences de cette préexposition sur l'aversion gustative conditionnée, cette dernière étant

mesurée lors d'une séance de test pendant laquelle l'animal a accès à deux solutions, la solution de saccharose et de l'eau

Matériel et méthodes

Animaux

Vingt quatre rats sont utilisés dans cette expérience. Ces rats proviennent d'une expérience de réponse émotionnelle conditionnée non présentée dans ce mémoire, à l'issue de laquelle ils ont été déplacés dans une animalerie attenante à une autre salle d'expérience. Ils ont alors accès à la nourriture et à la boisson *ad libitum* pendant 25 jours avant le début de cette expérience, leur poids moyen étant alors de 400 grammes.

Matériel

Huit boîtes aux parois de Plexiglas transparent (25 x 30 x 35 cm) sont utilisées. Les boîtes sont munies d'un plancher grillagé sous lequel se trouve de la sciure. La paroi antérieure de la boîte est percée de deux trous distants entre eux de 9,5 cm et à 2 cm du plancher. Ces derniers permettent l'introduction de l'extrémité coudée d'un tube de verre (tube de Richter, 25 ml), gradué de façon à pouvoir mesurer le volume consommé avec une précision de 0,5 ml.

Protocole

La veille de l'expérience à 13h, la boisson est retirée et ce pour toute la durée de l'expérience (23h30 de privation par jour). L'expérience se déroule le matin. Chaque soir à 18h, les animaux ont accès à l'eau dans leur cage d'habitation pour une durée de 10 minutes.

L'expérience comporte les 5 mêmes phases que celles de nos expériences précédentes : entraînement (3 séances), préexposition (3 séances), conditionnement (1 séance), réentraînement (2 séances) et test (1 séance), chaque séance durant 20 minutes. Pour toutes ces phases, sauf celle de test, les animaux ont accès uniquement à un tube de boisson (la position, droite ou gauche, du tube dans la boîte de conditionnement varie d'une séance à l'autre) contenant soit de l'eau (entraînement et réentraînement), soit une solution de saccharose à 5% (conditionnement). Pour la phase de préexposition, les animaux n'ont

également accès qu'à un seul tube de boisson contenant soit de l'eau, soit la solution de saccharose et ceci en fonction de leur condition de préexposition : les animaux non préexposés (groupe NPE, n=8) ont accès pendant les 3 séances de cette phase à de l'eau, les animaux préexposés deux fois (groupe PE2, n=8) ont accès à de l'eau uniquement lors de la première des séances de cette phase, puis à la solution de saccharose pour les deux séances suivantes et les animaux préexposés trois fois (groupe PE3, n=8) n'ont accès qu'à la solution de saccharose pendant les 3 séances de cette phase. Pour la phase de conditionnement, dès que les animaux sont retirés de la boîte de conditionnement, ils reçoivent une injection intrapéritonéale de chlorure de lithium (LiCl 0,15 M ; 63,6 mg/kg/10 ml dans du NaCl à 0,9%) avant d'être replacés dans leur cage d'habitation. Lors de la séance de test, les animaux ont accès à deux tubes de boisson, l'un contenant de l'eau et l'autre la solution de saccharose. Le protocole utilisé est présenté en détail pour chacun des trois groupes expérimentaux dans le tableau ci-dessous. A l'issue de chacune des séances, la consommation de chaque animal est relevée.

Jour	phase	boisson			position du tube
		Groupe NPE	Groupe PE2	Groupe PE3	
J1	entraînement	eau	eau	eau	gauche
J2		eau	eau	eau	droite
J3		eau	eau	eau	droite
J4	préexposition	eau	eau	saccharose	gauche
J5		eau	saccharose	saccharose	droite
J6		eau	saccharose	saccharose	gauche
J7	conditionnement	saccharose	saccharose	saccharose	gauche
J8	réentraînement	eau	eau	eau	droite
J9		eau	eau	eau	gauche
J10	test	eau/saccharose	eau/saccharose	eau/saccharose	droite pour eau / gauche pour saccharose

Analyse des données

Pour les phases d'entraînement, de préexposition, de conditionnement et de réentraînement, la quantité de boisson consommée fait l'objet d'une analyse de variance (ANOVA) à deux facteurs (facteur Préexposition à 3 niveaux [NPE ; PE2 ; PE3] et facteur Jour à 9 niveaux). Les différences entre les groupes sont établies par des comparaisons *post-hoc* avec le test de Newman-Keuls.

Pour la phase de test, l'aversion gustative conditionnée est évaluée en analysant le rapport de consommation, R=volume de saccharose consommé/(volume de saccharose consommé + volume d'eau consommé). Un rapport de consommation égal à 0 signifie que le rat ne consomme pas la solution de saccharose et indique donc une forte aversion gustative conditionnée. A l'opposé, un rapport de consommation égal à 1 signifie que le rat ne consomme que la solution de saccharose et indique donc une absence d'aversion gustative conditionnée. Cette variable fait l'objet d'une analyse de la variance (ANOVA) à un facteur (facteur Préexposition à 3 niveaux [NPE ; PE2 ; PE3]). Les différences entre les groupes sont établies par des comparaisons *post-hoc* avec le test de Newman-Keuls.

Résultats

Entraînement, préexposition, conditionnement et réentraînement

La consommation des différents groupes expérimentaux pour chacune de ces phases est représentée à la figure 6.1. Lorsque les animaux ont accès à l'eau, avant la phase de conditionnement (phase d'entraînement pour tous les groupes, les trois séances de préexposition pour le groupe NPE et la première séance de préexposition pour le groupe PE2), leur consommation est comparable d'un groupe à l'autre et d'une séance à l'autre. Par contre, lorsque les animaux ont accès à la solution de saccharose (J4 à J7, J5 à J7 et J7 pour les groupes PE3, PE2 et NPE, respectivement), leur consommation est plus importante que lors des séances où ils ont accès à l'eau. Lors du conditionnement, le volume de saccharose consommé semble comparable entre les différents groupes. Lors du réentraînement, le volume d'eau consommé dans chacun des groupes est comparable aux volumes d'eau consommés avant le conditionnement. Cette description des données est confirmée par l'ANOVA qui révèle un effet significatif des facteurs Préexposition ($F(2,21)=6,14$, $p<0,01$), Jour ($F(8,168)=81,55$, $p<0,0001$) ainsi que de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(16,168)=13,04$, $p<0,0001$). L'analyse *post-hoc* sur l'interaction indique que dans chaque groupe, avant le conditionnement, la consommation ne diffère pas d'une séance à l'autre lorsque les animaux ont accès à l'eau et que les groupes ne diffèrent pas entre eux à ces séances. Par contre, dans chacun des groupes, la consommation est plus importante lors des séances où les animaux ont accès à la solution de saccharose que lors des séances où ils ont accès à l'eau (premier jour d'accès à la solution sucrée par rapport à la séance précédente,

p<0,001 dans les trois groupes ; séance de conditionnement avec solution de saccharose par rapport à la première séance de réentraînement avec eau, p<0,001 dans les trois groupes). Cependant, bien que les différents groupes aient eu accès à la solution de saccharose un nombre de séances différent pendant la phase de préexposition (3 séances, 2 séances et aucune séance pour les groupes PE3, PE2 et NPE, respectivement), leur consommation lors de la séance de conditionnement ne diffère pas significativement. Enfin, le conditionnement n'affecte pas la consommation d'eau lors de la phase de réentraînement, puisque les volumes d'eau consommés dans chacun des groupes lors de cette phase ne diffèrent pas du volume d'eau consommé avant le conditionnement.

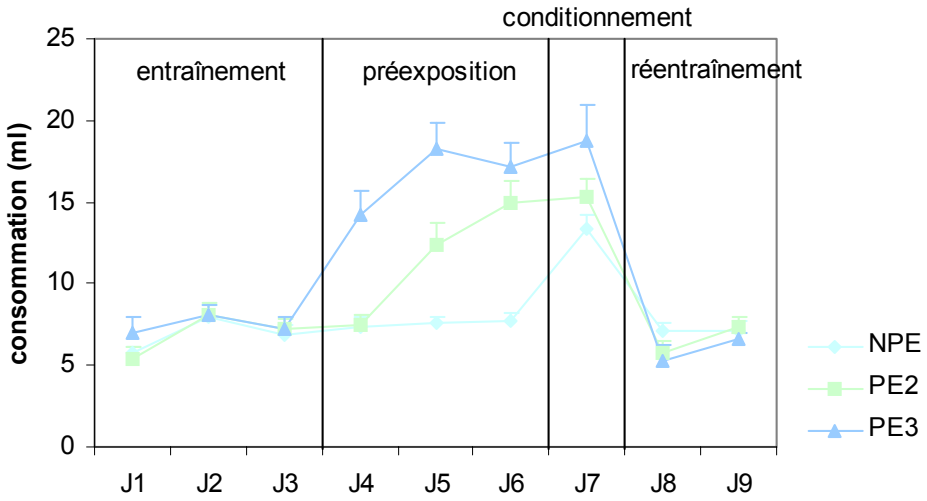


Figure 6.1 : Consommation des animaux au cours des phases d'entraînement, de préexposition, de conditionnement et de réentraînement. Moyenne (± erreur type) du volume consommé.

Test

Les résultats (rapport de consommation) obtenus pour les différents groupes sont présentés à la figure 6.2. Le groupe NPE présente un rapport proche de 0 (0,02 ± 0,01) indiquant une très forte aversion gustative conditionnée. Le groupe PE2 présente un rapport proche de 0,5 (0,56 ± 0,10) indiquant une faible aversion gustative conditionnée. Le groupe PE3 présente un rapport proche de 1 (0,90 ± 0,04) indiquant une absence d'aversion gustative conditionnée. Cette description est confirmée par l'ANOVA qui révèle un effet significatif du facteur Préexposition ($F(2,21)=50,42$, $p<0,0001$). L'analyse *post-hoc* indique que les groupes PE2 et PE3 présentent des rapports de consommation différents de celui du groupe NPE ($p<0,001$ dans les deux cas). De plus le groupe PE3 diffère du groupe PE2 ($p<0,01$).

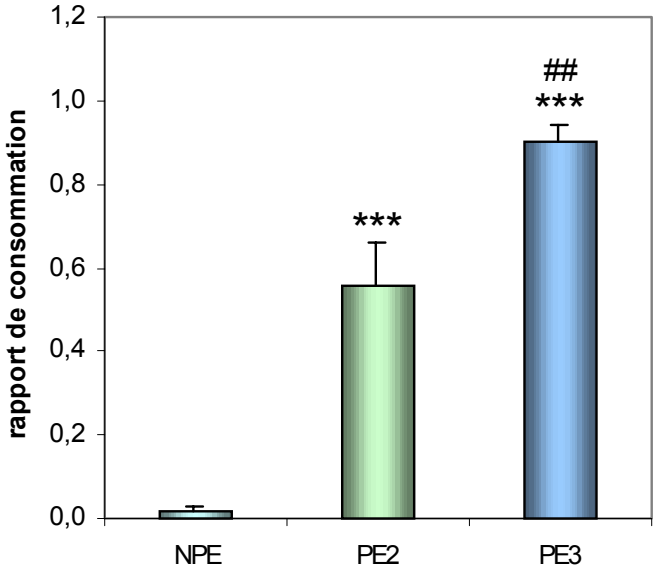


Figure 6.2 : Effet du nombre de jours de préexposition sur l'inhibition latente. Moyenne (± erreur type) du rapport de consommation. *** : p<0,001 par rapport au groupe NPE ; ## : p<0,01 par rapport au groupe PE2. *La préexposition à une solution de saccharose permet d'induire de l'inhibition latente dont l'ampleur dépend de la quantité de préexposition.*

Discussion

Les résultats de cette expérience montrent que la présentation répétée d'une solution de saccharose, avant la phase de conditionnement, induit une diminution de l'aversion gustative conditionnée à cette solution, *i.e.* de l'inhibition latente, dont l'ampleur dépend de la quantité de préexposition.

En raison de différences de protocoles (durée des séances, décours temporel de l'expérience, boîtes de test), nos résultats sont difficilement comparables avec ceux de la littérature. Néanmoins, il semblerait que l'aversion gustative conditionnée obtenue dans notre expérience soit particulièrement marquée (rapport de consommation proche de 0 comparé à un rapport d'environ 0,2 dans d'autres études ; Ellenbroek et coll., 1996 ; Ellenbroek et coll., 1997 ; Turgeon et coll., 1998). Le niveau de conditionnement dépend des propriétés du SI (concentration, quantité, mode d'injection ; Nachman et Ashe, 1973) et du SC (concentration, quantité consommée, mode d'administration ; Bond et Harland, 1975 ; Rodriguez et Alonso, 2002 ; Yamamoto et coll., 2002). Mais le niveau de conditionnement particulièrement élevé

que nous obtenons pourrait également résulter de l'utilisation de boîtes autres que les cages d'habitation pour tester les animaux (De la Casa et coll., 2003).

Dans nos conditions expérimentales, 2 séances de préexposition suffisent à induire de l'inhibition latente, et 3 séances de préexposition conduisant à une inhibition latente "maximale" (rapport proche de 1). Cette gradation de la réponse en fonction du nombre de jours de préexposition a déjà été décrite (pour revue, voir Lubow, 1989, tableau 9). Par contre, il n'existe pas à notre connaissance de publication signalant un niveau d'inhibition latente aussi prononcé que celui que nous obtenons avec 3 séances de préexposition (rapport de consommation de 0,9 comparé à un rapport d'environ 0,5 dans d'autres études utilisant 3 séances de préexposition ; Ellenbroek et coll., 1996 ; Ellenbroek et coll., 1997).

Cette expérience nous a donc permis de mettre en évidence le phénomène d'inhibition latente dans une situation d'aversion gustative conditionnée, et ce avec un protocole dont le décours temporel est similaire à celui utilisé dans notre situation de réponse émotionnelle conditionnée.

EXPERIENCE 7 : EFFET DE LA LESION DU CORTEX ENTORHINAL SUR L'INHIBITION LATENTE DANS LA SITUATION D'AVERSION GUSTATIVE CONDITIONNEE

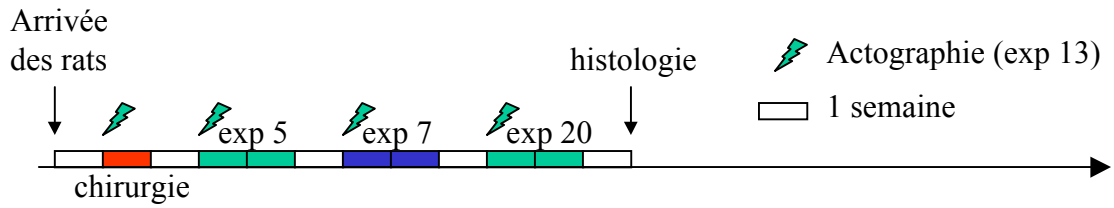
Introduction

Le but de cette expérience est d'évaluer les conséquences de la lésion du cortex entorhinal sur l'inhibition latente dans l'aversion gustative conditionnée. La condition avec 3 séances de préexposition a été retenue, celle-ci ayant conduit à une inhibition latente robuste dans l'expérience précédente. Par ailleurs, certains auteurs ayant décrits des effets opposés de lésion de différentes régions cérébrales dont l'hippocampe et le septum sur l'inhibition latente selon qu'elle est évaluée dans une tâche de peur conditionnée à un son ou d'aversion gustative conditionnée (suppression *vs* augmentation ; cf. introduction de ce chapitre), nous avons également évalué les effets de cette lésion dans une condition de préexposition plus faible. L'inhibition latente obtenue avec 2 préexpositions dans l'expérience précédente étant déjà importante, nous avons utilisé pour cette expérience, la préexposition la plus faible possible avec notre protocole, *i.e.* une seule séance de préexposition à la solution de saccharose.

Matériel et méthodes

Animaux

Les rats sont les mêmes que ceux de l'expérience 5 (voir ci-dessous, l'expérience en cours étant figurée en bleu), ayant permis de mettre en évidence les effets délétères de la lésion du cortex entorhinal sur l'inhibition latente dans la réponse émotionnelle conditionnée (ces animaux ont donc un historique similaire à celui des animaux utilisés dans l'expérience précédente, *i.e.* passation dans une situation de réponse émotionnelle conditionnée). A l'issue de l'expérience 5, les rats ont été déplacés dans une animalerie attenante à une autre salle d'expérience. Ils ont alors accès à la nourriture et à la boisson *ad libitum* pendant 10 jours avant le début de cette expérience, leur poids moyen étant alors de 380 grammes.



Le matériel et le protocole sont identiques à ceux de l'expérience 6, à l'exception de la phase de préexposition, trois groupes de rats (NPE, PE1 et PE3 ; voir tableau ci-après) étant constitués pour chaque condition chirurgicale. Pour faciliter la comparaison avec les résultats de l'expérience 5, les animaux des groupes NPE, PE5 et PE20 de l'expérience 5 ont été affectés, dans la présente expérience, aux groupes NPE, PE1 et PE3, respectivement. Un animal étant mort entre ces deux expériences, les effectifs de chacun des groupes sont les suivants : NPE-PSEUDO (n=10), PE1-PSEUDO (n=10), PE3-PSEUDO (n=10), NPE-ENTO (n=8), PE1-ENTO (n=8) et PE3-ENTO (n=7).

Jour	phase	boisson			position du tube
		Groupe NPE	Groupe PE1	Groupe PE3	
J1	entraînement	eau	eau	eau	gauche
J2		eau	eau	eau	droite
J3		eau	eau	eau	droite
J4	préexposition	eau	eau	saccharose	gauche
J5		eau	eau	saccharose	droite
J6		eau	saccharose	saccharose	gauche
J7	conditionnement	saccharose	saccharose	saccharose	gauche
J8	réentraînement	eau	eau	eau	droite
J9		eau	eau	eau	gauche
J10	test	eau/saccharose	eau/saccharose	eau/saccharose	droite pour eau / gauche pour saccharose

Analyse des données

Pour les phases d'entraînement, de préexposition, de conditionnement et de réentraînement, la quantité de boisson consommée fait l'objet d'une analyse de variance (ANOVA) à trois facteurs (facteur Préexposition à 3 niveaux [NPE ; PE1 ; PE3], facteur Lésion à 2 niveaux [PSEUDO ; ENTO] et facteur Jour à 9 niveaux). Les différences entre les groupes sont établies par des comparaisons *post-hoc* avec le test de Newman-Keuls.

Pour la phase de test, le rapport de consommation, R, fait l'objet d'une analyse de la variance (ANOVA) à deux facteurs (facteur Préexposition à 3 niveaux [NPE ; PE2 ; PE3] et facteur Lésion à 2 niveaux [PSEUDO ; ENTO]). Les différences entre les groupes sont établies par des comparaisons *post-hoc* avec le test de Newman-Keuls.

Résultats

Entraînement, préexposition, conditionnement et réentraînement

La consommation des différents groupes expérimentaux pour chacune de ces phases est représentée à la figure 7.1. Lorsque les animaux ont accès à l'eau, avant la phase de conditionnement (phase d'entraînement pour tous les groupes, les trois séances de préexposition pour le groupe NPE et les deux premières séances de préexposition pour le groupe PE1), leur consommation est comparable d'un groupe à l'autre et d'une séance à l'autre (excepté peut-être pour le groupe PE3-PSEUDO à J1). Par contre, lorsque les animaux ont accès à la solution de saccharose (J4 à J7, J6 à J7 et J7 pour les groupes PE3, PE1 et NPE, respectivement), leur consommation est plus importante que lors des séances où ils ont accès

à l'eau. Lors de la phase de préexposition, le volume de saccharose consommé est comparable entre les différents groupes, excepté pour le groupe PE3 à J4 qui présente une consommation inférieure. Lors du conditionnement, le volume de saccharose consommé est comparable entre les différents groupes, excepté pour le groupe NPE-ENTO qui présente une consommation inférieure à celle des autres groupes. Lors du premier jour de réentraînement, le volume d'eau consommé dans chacun des groupes est inférieur aux volumes d'eau consommés avant le conditionnement, excepté pour le groupe NPE-ENTO. Cette description des données est confirmée par l'ANOVA qui révèle un effet significatif des facteurs Préexposition ($F(2,47)=7,16$, $p<0,01$), Jour ($F(8,376)=1,83$, $p<0,0001$) ainsi que de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(16,376)=22,17$, $p<0,0001$), mais pas du facteur Lésion ($F(1,47)=0,01$, ns), ni des interactions de premier ordre impliquant ce facteur. L'interaction de deuxième ordre étant significative ($F(16,376)=2,20$, $p<0,01$), les effets simples de l'interaction entre les facteurs Préexposition et Jour ont été analysés séparément pour chacune des conditions lésionnelles, les effets simples de l'interaction entre les facteurs Lésion et Jour analysés séparément pour chacune des conditions de préexpositions n'ayant révélé aucune différence entre les groupes PSEUDO et ENTO. L'ANOVA pour le groupe PSEUDO révèle un effet significatif des facteurs Préexposition ($F(2,27)=4,36$, $p<0,05$), Jour ($F(8,216)=97,85$, $p<0,0001$), ainsi que de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(16,216)=12,65$, $p<0,0001$). L'analyse *post-hoc* sur l'interaction indique que dans chaque groupe, avant le conditionnement, la consommation ne diffère pas d'une séance à l'autre lorsque les animaux ont accès à l'eau, à l'exception du groupe PE3 à J1 ($p<0,05$ et $p<0,01$ par rapport au même groupe à J2 et J3, respectivement) et que les groupes ne diffèrent pas entre eux à ces séances. Par contre, dans chacun des groupes, la consommation est plus importante lors des séances où les animaux ont accès à la solution de saccharose que lors des séances où ils ont accès à l'eau (premier jour d'accès à la solution sucrée par rapport à la séance précédente, $p<0,001$ dans les trois groupes et séance de conditionnement avec solution de saccharose par rapport à la première séance de réentraînement avec eau, $p<0,001$ dans les trois groupes), mais leur consommation ne diffère pas d'une séance à l'autre lorsque les animaux ont accès à la solution de saccharose, à l'exception du groupe PE3 à J4 qui diffère des groupes PE3 à J5, J6 et J7, NPE à J7 et PE1 à J7 ($p<0,01$ au moins). Cependant, bien que les différents groupes aient eu accès à la solution de saccharose pendant un nombre de séances différent lors de la phase de préexposition (3 séances, 1 séance et aucune séance pour les groupes PE3, PE1 et NPE, respectivement), leur consommation lors de la séance de conditionnement ne diffère pas. Enfin, le conditionnement

affecte la consommation d'eau lors de la phase de réentraînement (premier jour), puisque les volumes d'eau consommés dans chacun des groupes lors de cette phase diffèrent du volume d'eau consommé juste avant le conditionnement ($p<0,01$ au moins). L'ANOVA pour le groupe ENTO révèle un effet significatif des facteurs Préexposition ($F(2,20)=3,56$, $p<0,05$), Jour ($F(8,160)=52,21$, $p<0,0001$), ainsi que de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(16,160)=11,51$, $p<0,0001$). L'analyse *post-hoc* sur l'interaction indique que dans chaque groupe, avant le conditionnement, la consommation ne diffère pas d'une séance à l'autre lorsque les animaux ont accès à l'eau, et que les groupes ne diffèrent pas entre eux à ces séances. Par contre, dans chacun des groupes, la consommation est plus importante lors des séances où les animaux ont accès à la solution de saccharose que lors des séances où ils ont accès à l'eau (premier jour d'accès à la solution sucrée par rapport à la séance précédente, $p<0,05$ au moins, et séance de conditionnement avec solution de saccharose par rapport à la première séance de réentraînement avec eau, $p<0,001$ dans les trois groupes), mais leur consommation ne diffère pas d'une séance à l'autre lorsque les animaux ont accès à la solution de saccharose, à l'exception du groupe PE3 à J4 qui diffère des groupes PE3 à J6 et J7 et PE1 à J7 ($p<0,05$ au moins). Cependant, bien que les différents groupes aient eu accès à la solution de saccharose pendant un nombre de séances différent lors de la phase de préexposition (3 séances, 1 séance et aucune séance pour les groupes PE3, PE1 et NPE, respectivement), leur consommation lors de la séance de conditionnement ne diffère pas. Enfin, le conditionnement affecte la consommation d'eau lors de la phase de réentraînement (premier jour) pour les groupes PE1 et PE3, puisque les volumes d'eau consommés dans chacun de ces groupes lors de cette phase diffèrent du volume d'eau consommé juste avant le conditionnement ($p<0,01$ au moins).

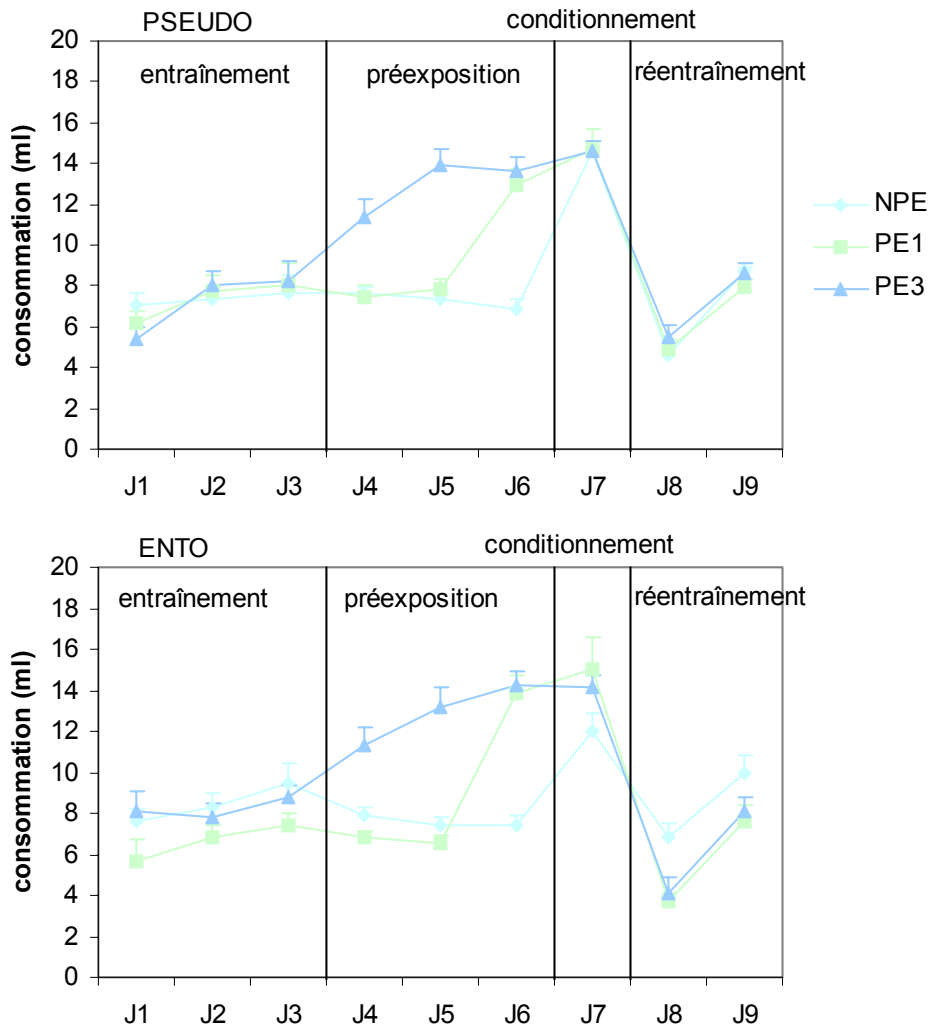


Figure 7.1 : Consommation des animaux au cours des phases d'entraînement, de préexposition, de conditionnement et de réentraînement. Moyenne (± erreur type) du volume consommé.

Test

Les résultats (rapport de consommation) obtenus pour les différents groupes sont présentés à la figure 7.2. Les groupes NPE présentent des rapports proches de 0 (0,20 ± 0,09 et 0,04 ± 0,02 pour les animaux PSEUDO et ENTO, respectivement) indiquant une forte aversion gustative conditionnée. Les groupes PE1 présentent des rapports proches de 0,5 (0,60 ± 0,11 et 0,39 ± 0,14 pour les animaux PSEUDO et ENTO, respectivement) indiquant une faible aversion gustative conditionnée. Les groupes PE3 présentent des rapports proches de 1 (0,78 ± 0,07 et 0,74 ± 0,08 pour les animaux PSEUDO et ENTO, respectivement) indiquant une absence d'aversion gustative conditionnée. Cette description est confirmée par l'ANOVA qui

révèle un effet significatif du facteur Préexposition ($F(2,47)=22,59$, $p<0,0001$), mais pas du facteur Lésion, malgré une tendance ($F(1,47)=3,21$, $p=0,08$), ni de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(2,47)=0,37$, ns). L'analyse *post-hoc* de comparaisons multiples entre groupes indique que les groupes PE1 et PE3, aussi bien PSEUDO que ENTO, présentent des rapports de consommation différents de celui des groupes NPE ($p<0,05$ au moins). De plus, le groupe PE3-ENTO diffère du groupe PE2-ENTO ($p<0,05$).

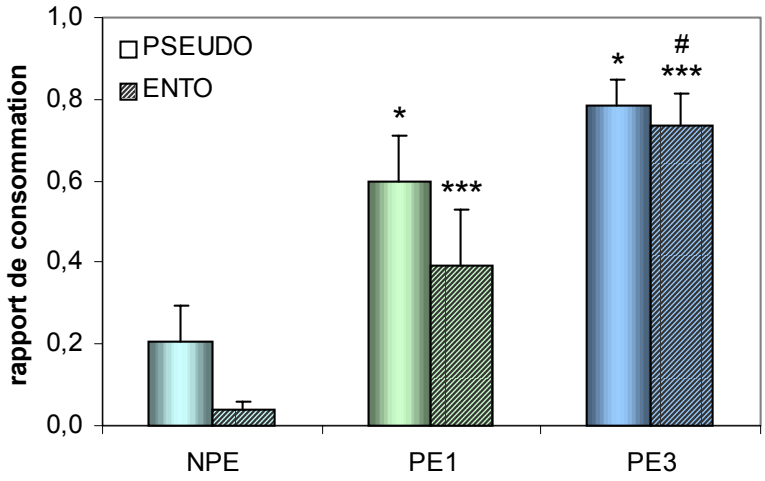


Figure 7.2 : Effet de la lésion du cortex entorhinal sur l'inhibition latente. Moyenne (± erreur type) du rapport de consommation. * : $p<0,05$ et *** : $p<0,001$ par rapport au groupe NPE ; # : $p<0,05$ par rapport au groupe PE1. *La lésion du cortex entorhinal n'affecte pas l'inhibition latente induite par la préexposition à une solution de saccharose.*

Discussion

Les résultats de cette expérience montrent que la lésion du cortex entorhinal n'affecte pas l'inhibition latente dans une situation d'aversion gustative conditionnée.

Contrairement à l'effet décrit dans l'expérience 5 (inhibition latente dans la situation de réponse émotionnelle conditionnée), la lésion du cortex entorhinal n'affecte pas l'inhibition latente dans une situation d'aversion gustative conditionnée. Cette absence d'effet ne semble pas résulter d'un problème de lésion, celle-ci s'étant avérée efficace dans l'expérience 5 (mêmes animaux). La différence de délai entre les opérations et la passation des tests (20 jours dans l'expérience 5 et 40 dans celle-ci) ne semble pas être un élément critique, au vu des observations de déficits à des délais postopératoires allant de 15 jours (Coutureau et coll., 1999) à 3 mois (Yee et coll., 1995a). De plus, comme en attestent les résultats de l'expérience

13 (effets de la lésion sur l'activité locomotrice des animaux), les effets obtenus à un délai postopératoire de 1 semaine se retrouvent à des délais de 4 et 7 semaines. Enfin, bien que l'inhibition latente obtenue avec la forte condition de préexposition puisse être particulièrement robuste, et de fait non modulable, un tel argument ne s'applique pas à l'inhibition latente obtenue avec 1 séance de préexposition.

Il convient de remarquer que le niveau d'inhibition latente obtenu avec cette condition de préexposition (PE1) est similaire à celui obtenu avec une condition plus forte (PE2) dans l'expérience précédente, et ce malgré un volume total de saccharose consommé pendant la phase de préexposition différent (13 contre 27 ml respectivement). Cette différence pourrait résulter d'une aversion gustative conditionnée (groupes NPE) légèrement moins marquée dans cette expérience (rapport de consommation de 0,2 et de 0 respectivement), et ce malgré une consommation de saccharose similaire le jour de conditionnement. Il est intéressant de noter que dans la présente expérience, cette aversion gustative conditionnée moins marquée (réponse au SC) s'accompagne d'une réponse au contexte (diminution de la consommation d'eau le premier jour de réentraînement) plus importante. Ceci ne s'observe cependant pas chez les animaux lésés (groupe NPE-ENTO) qui présentent une forte aversion gustative conditionnée (rapport de consommation de 0) et qui ne montrent pas de réponse au contexte.

En résumé, alors que la lésion du cortex entorhinal supprime l'inhibition latente dans la situation de réponse émotionnelle conditionnée, elle ne semble pas affecter l'inhibition latente dans la situation d'aversion gustative conditionnée.

DISCUSSION

Après une première tentative infructueuse (expérience 3), nous avons pu confirmer que la lésion du cortex entorhinal supprime l'inhibition latente dans la situation de réponse émotionnelle conditionnée (expérience 5). Pour rendre compte de ces résultats, nous avons émis l'hypothèse selon laquelle la lésion du cortex entorhinal ne peut affecter l'inhibition latente que lorsque le niveau de conditionnement est élevé (expérience 5, mais pas expérience 3). Nous avons pu montrer également que l'inhibition latente dépend non seulement de l'impact de la préexposition (expérience 1), mais également de l'impact du conditionnement (expérience 2), et donc d'un équilibre entre l'impact de la préexposition et l'impact du conditionnement, en accord avec plusieurs modèles, dont le modèle du *switching* (Weiner, 2003). De fait, pour affecter l'inhibition latente, il suffit d'altérer cet équilibre, soit en diminuant l'impact de la préexposition, soit en augmentant l'impact du conditionnement. Bien que les résultats de l'expérience 5 (données acquises lors de la phase de préexposition) puissent suggérer que la lésion du cortex entorhinal pourrait altérer le traitement du son, d'autres données (études non présentées dans ce mémoire ; Coutureau, 1999) indiquent que la lésion du cortex entorhinal augmenterait l'impact du conditionnement. Bien qu'apparemment les résultats de l'expérience 5 ne semblent pas soutenir cette proposition (absence d'effet de la lésion sur le *freezing* post-choc ou sur le rapport de suppression des groupes NPE), il convient de noter que ces mesures ne permettent pas de mettre en évidence une augmentation de la réponse conditionnée au son. En effet, le *freezing* post-choc correspond à la réponse conditionnée aux indices associés aux chocs, et donc un contexte dans lequel sont présentés des sons (et non à la réponse conditionnée aux sons). Quant à nos conditions de conditionnement, elles induisent une réponse émotionnelle conditionnée maximale (effet "plancher"). Nous proposons donc de tester directement l'hypothèse selon laquelle la lésion du cortex entorhinal augmente l'impact du conditionnement, en évaluant les effets de la lésion du cortex entorhinal sur la réponse émotionnelle conditionnée (expérience 8 du chapitre suivant).

La lésion du cortex entorhinal affecte l'inhibition latente dans la situation de réponse émotionnelle conditionnée (expérience 5), mais pas dans celle d'aversion gustative conditionnée (expérience 7). Cette divergence entre les résultats obtenus dans ces deux situations a déjà été présentée dans l'introduction de ce chapitre concernant les effets de lésions de l'hippocampe ou du septum. L'implication de ces dissociations sur les processus

psychologiques et/ou neurobiologiques sous-tendant l'inhibition latente dans les deux situations a déjà été discutée (voir Buhusi et coll., 1998 ; Turgeon et coll., 2001). Une telle dissociation a également été observée consécutivement à des lésions du raphé dans une situation d'évitement actif comparée à une situation d'aversion gustative conditionnée (Asin et coll., 1980), suggérant une implication différentielle de l'activité sérotoninergique mésolimbique dans l'inhibition latente dans ces deux situations d'apprentissage. Or, il a été proposé par Weiner (Weiner, 2003) que l'encodage de la contingence SC-pas d'événement (lors de la préexposition) serait sous-tendu par le cortex entorhinal et son innervation sérotoninergique. La dissociation d'effet observée dans ce chapitre pourrait donc aller dans le sens d'une implication du cortex entorhinal lors de la phase de préexposition *via* son innervation sérotoninergique (dans la situation de réponse émotionnelle conditionnée).

De même, alors que l'implication du noyau accumbens, et de son innervation dopaminergique, dans l'inhibition latente semble recueillir un large consensus (cf. introduction générale), les données obtenues dans la situation d'aversion gustative conditionnée impliqueraient plutôt le noyau caudé-putamen. En effet, alors que dans la réponse émotionnelle conditionnée, les animaux préexposés présentent des niveaux d'activation du noyau accumbens (révélés par l'induction du gène *c-fos*) inférieurs à ceux des animaux non préexposés (Sotty et coll., 1996), dans l'aversion gustative conditionnée cette diminution des niveaux d'activité se retrouve dans le noyau caudé-putamen et non dans le noyau accumbens (Turgeon et Reichstein, 2002). De plus, alors que dans la réponse émotionnelle conditionnée, l'infusion d'amphétamine dans le noyau accumbens produit un déficit d'inhibition latente (Joseph et coll., 2000), dans l'aversion gustative conditionnée, cet effet est obtenu lorsque l'infusion est réalisée dans le noyau caudé-putamen et non dans le noyau accumbens (Ellenbroek et coll., 1997 ; voir également cette étude pour une discussion sur les processus impliqués dans cette dissociation). Or, selon le modèle du *switching* (Weiner, 2003), l'activité dopaminergique au sein du noyau accumbens interviendrait, lors du conditionnement, dans le basculement de la contingence SC-pas de conséquence vers la contingence SC-SI. La dissociation d'effet signalée dans ce chapitre irait donc dans le sens d'une implication du cortex entorhinal lors de la phase de conditionnement *via* une action sur l'activité dopaminergique au sein du noyau accumbens (dans la situation de réponse émotionnelle conditionnée). Il convient alors de déterminer si le cortex entorhinal intervient lors de la phase de préexposition ou lors de la phase de conditionnement. Ceci sera réalisé dans l'expérience 12 du chapitre suivant. Néanmoins, si la lésion du cortex entorhinal affecte

l'inhibition latente en augmentant l'impact du conditionnement (cf. hypothèse précédente), une action lors de la phase de conditionnement peut être envisagée, et dans ce cas, *via* une altération de l'activité dopaminergique méso-accumbens (ceci sera évalué dans le chapitre 3).

CHAPITRE 2 :
ETUDE DU MECANISME IMPLIQUE DANS LES EFFETS DELETERES DE LA LESION DU CORTEX ENTORHINAL

INTRODUCTION

Dans leur ensemble, les expériences du premier chapitre nous ont amenés à émettre l'hypothèse selon laquelle le déficit d'inhibition latente induit par la lésion du cortex entorhinal pourrait résulter d'une augmentation de l'impact du conditionnement. Pour tester cette hypothèse, nous avons évalué les effets de la lésion du cortex entorhinal sur la réponse émotionnelle conditionnée (expérience 8), mais également sur le seuil de réactivité à des chocs électriques (expérience 9).

Dans un deuxième temps, nous nous sommes intéressés aux effets de la lésion du cortex entorhinal sur les niveaux d'anxiété et de stress dont l'altération est susceptible d'affecter la réponse émotionnelle conditionnée. En effet, plusieurs travaux ont montré que le stress facilite l'apprentissage (Shors et coll., 1992 ; Shors, 2001), et il a également été proposé que le phénomène de consolidation pourrait impliquer les hormones du stress comme modulateur endogène (pour revue, voir Roozendaal, 2000). Le stress déclenche toute une cascade d'événements physiologiques dans l'axe hypothalamo-pituitaire-adrénocortical (HPA) résultant *in fine* en la libération de glucocorticoïdes, dont le principal chez le rat est la corticostérone (pour revue, voir Herman et Cullinan, 1997). Il est maintenant bien établi que les glucocorticoïdes, sécrétés après des événements stressants, augmentent la consolidation mnésique (pour revue, voir Roozendaal, 2002) et que ces effets dépendraient au moins en partie d'une interaction entre les glucocorticoïdes et la noradrénaline au sein de l'amygdale basolatérale (pour revue, voir Roozendaal, 2000).

L'axe HPA peut être régulé par plusieurs circuits en fonction du type de stress rencontré (Pacak et Palkovits, 2001). Ces stress, et de fait les circuits qui leurs sont spécifiques, ont été regroupés en deux catégories (Herman et Cullinan, 1997). Le premier circuit, qualifié de "systémique", est sensible à des stimuli qui représentent un danger immédiat. Le second circuit, qualifié de "*processive*", est plus sensible à des stress impliquant des traitements sensoriels d'ordre supérieur, comme par exemple la contention, la peur conditionnée ou l'exposition à un environnement nouveau. Dans la peur conditionnée, l'activation de l'axe HPA se ferait par l'amygdale centrale, mais également par le noyau du lit de la strie terminale (Herman et Cullinan, 1997). L'inhibition de l'axe HPA, via un rétrocontrôle inhibiteur, semble impliquer plusieurs structures, dont l'hippocampe, le cortex préfrontal et le septum latéral (Herman et Cullinan, 1997). Au vu des relations anatomiques reliant le cortex entorhinal et

ces différentes structures (cf. introduction générale), il semble envisageable qu'une lésion de ce dernier puisse affecter leur fonctionnement, conduisant ainsi à une régulation anormale de l'axe HPA. Ce souci d'évaluer les effets de la lésion du cortex entorhinal sur le fonctionnement de l'axe HPA a motivé les expériences 10 et 11 de ce chapitre.

Enfin, dans une dernière expérience (expérience 12), nous avons voulu déterminer au cours de quelle phase du paradigme d'inhibition latente intervient le cortex entorhinal, *i.e.* lors de la phase de préexposition ou lors de la phase de conditionnement. En effet, les éléments que nous avons discutés à la fin du chapitre précédent permettent d'envisager une implication du cortex entorhinal dans chacune de ces phases et plus précisément lors de la phase de préexposition *via* son innervation sérotoninergique et lors de la phase de conditionnement *via* une action sur l'activité dopaminergique au sein du noyau accumbens.

Pour identifier la phase d'apprentissage (préexposition ou conditionnement) au cours de laquelle l'intégrité fonctionnelle du cortex entorhinal est requise, nous avons utilisé une technique d'inactivation réversible, et de fait transitoire (pour revue, voir Lomber, 1999 ; Majchrzak et Di Scala, 2000 ; Malpeli, 1999). Une telle approche présente également l'avantage de s'affranchir des réorganisations (plasticité compensatoire) consécutives à des lésions.

EXPERIENCE 8 : EFFET DE LA LESION DU CORTEX ENTORHINAL SUR LA REPONSE EMOTIONNELLE CONDITIONNEE

Introduction

Le but de cette expérience est d'évaluer les effets de la lésion du cortex entorhinal sur la réponse émotionnelle conditionnée. Pour ce faire, nous avons conservé les mêmes paramètres de conditionnement que dans l'expérience 4, à l'exception de l'intensité du choc électrique que nous avons fait varier dans différents groupes d'animaux. Notre hypothèse étant que la lésion devrait produire une facilitation de la réponse émotionnelle conditionnée, nous avons donc utilisé de faibles intensités de chocs, allant de 0,1 mA à 0,4 mA avec un incrément de 0,1 mA. Par ailleurs, afin de vérifier que la suppression de réponse observée reflétait bien le lien associatif entre le son et le choc, nous avons également évalué l'amplitude de la suppression de réponse induite par le son dans un groupe d'animaux ne recevant pas de choc électrique lors de la phase de conditionnement (0,0 mA).

Matériel et méthodes

Animaux

Cent vingt rats sont utilisés dans cette expérience dont le matériel et le protocole sont identiques à celui de l'expérience 5. Lors de la phase de préexposition, tous les animaux sont simplement placés dans la boîte de test pour une durée de 20 minutes (non préexposés). Au cours de la phase de conditionnement, le son est apparié à quatre reprises avec le choc électrique d'une intensité de 0,0 mA, 0,1 mA, 0,2 mA, 0,3 mA ou 0,4 mA selon les groupes, et ce pour chaque condition chirurgicale (n=10-14 par groupe). L'opération chirurgicale a lieu selon la méthode décrite dans l'expérience 5, 70 rats subissant une lésion du cortex entorhinal (ENTO) et 50 rats servant de témoins pseudo-opérés (PSEUDO).

Analyse des données

Seules les données obtenues lors des phases de réentraînement et de test sont présentées, les données mesurées lors des phases d'entraînement, de préexposition et de conditionnement

ne révélant aucun effet de la lésion du cortex entorhinal, confirmant les résultats obtenus lors de ces différentes phase dans l'expérience 5. En ce qui concerne la mesure de *freezing* effectuée lors du conditionnement, non seulement nous n'avons pas observé d'effet de la lésion dans l'expérience présente, en accord avec d'autres travaux (Maren et Fanselow, 1995), mais au vu des résultats de l'expérience 4, il semblerait que cette mesure soit peu pertinente aux faibles intensités de chocs utilisées.

Pour la phase de réentraînement, les variables LAP et LAT_{10} font l'objet d'une analyse de variance (ANOVA) à trois facteurs (facteur Lésion à 2 niveaux [PSEUDO ; ENTO], facteur Intensité à 5 niveaux [0,0 ; 0,1 ; 0,2 ; 0,3 ; 0,4] et facteur Séance à 2 niveaux). Pour la phase de test, la variable R_{10}, ainsi que les variables LAT_{10} et $N_{pré\text{-}son}$, font l'objet d'une analyse de variance (ANOVA) à deux facteurs (facteur Lésion à 2 niveaux [PSEUDO ; ENTO] et facteur intensité à 5 niveaux [0,0 ; 0,1 ; 0,2 ; 0,3 ; 0,4]). Les différences entre les groupes sont analysées par des comparaisons *post-hoc* avec le test de Newman-Keuls.

Résultats

Vérifications histologiques

Vingt neuf rats ont été écartés de l'analyse statistique des résultats sur la base des critères suivants : atteinte importante du subiculum et/ou du gyrus denté et/ou du champ CA1 de l'hippocampe (n=12), atteinte unilatérale (n=11), atteinte insuffisante du cortex entorhinal (n=6). De plus, 2 rats sont morts avant l'analyse histologique. A l'issue de la vérification histologique, les effectifs de chacun des groupes sont les suivants : PSEUDO 0,0 mA (n=10), PSEUDO 0,1 mA (n=10), PSEUDO 0,2 mA (n=10), PSEUDO 0,3 mA (n=10), PSEUDO 0,4 mA (n=10), ENTO 0,0 mA (n=6), ENTO 0,1 mA (n=9), ENTO 0,2 mA (n=7), ENTO 0,3 mA (n=9) et ENTO 0,4 mA (n=7).

Comme l'illustre la figure 8.1 la lésion s'étend des plans -6,3 mm à -8,3 mm par rapport au Bregma. La lésion affecte à la fois la partie médiane et la partie latérale du cortex entorhinal. Les couches superficielles et profondes sont atteintes dans la majorité des cas. Il faut également noter une atteinte postérieure du présubiculum, du parasubiculum et du subiculum ventral dans certains cas. Aucune atteinte n'est observée chez les animaux PSEUDO.

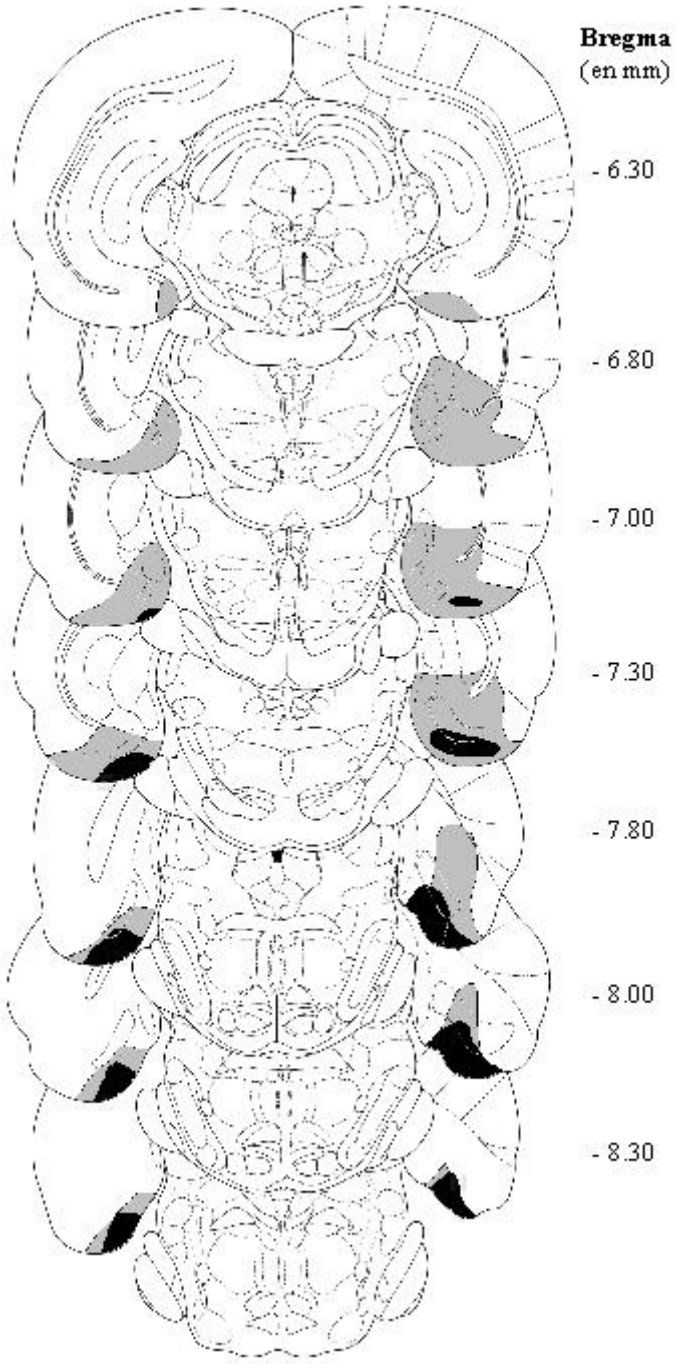


Figure 8.1 : Représentation schématique de la plus petite (en noir) et de la plus grande (en gris) étendue des lésions du cortex entorhinal. Les coordonnées des sections frontales correspondent à la distance par rapport au Bregma (d'après Paxinos et Watson, 1998).

Réentraînement

Au cours de cette phase, les animaux des différents groupes ne semblent pas différer entre eux (sauf les groupes ENTO 0,0 mA, ENTO 0,1 mA et ENTO 0,3 mA (J8) concernant les latences ; données non illustrées). L'ANOVA révèle un effet des facteurs Séance ($F(1,78)=24,38$, $p<0,001$ et $F(1,78)=10,60$, $p<0,0001$ pour les variables LAT_{10} et LAP, respectivement), Lésion pour la variable LAT_{10} ($F(1,78)=7,77$, $p<0,05$ et $F(1,78)=0,73$, ns pour les variables LAT_{10} et LAP, respectivement), mais pas du facteur Intensité ($F(4,78)=0,17$, ns et $F(4,78)=0,78$, ns pour les variables LAT_{10} et LAP, respectivement), ni d'aucune des interactions entre ces facteurs, avec cependant une tendance pour l'interaction entre le facteur Séance et le facteur Lésion ($F(1,78)=3,19$, $p=0,08$) pour la variable LAT_{10}. L'analyse *post-hoc* de comparaison multiples entre groupes indique que les animaux ENTO à J8 présentent des latences supérieures à celles des animaux ENTO à J9, PSEUDO à J8 et PSEUDO à J9 ($p<0,01$ au moins).

Test

Le jour du test, les latences (LAT_{10}) des différents groupes ne diffèrent pas comme le confirme l'ANOVA qui ne révèle pas d'effet significatif du facteur Lésion ($F(1,78)=1,70$, ns) ni du facteur Intensité ($F(4,78)=0,97$, ns), ni de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(4,48)=1,15$, ns).

Durant la période pré-son, le nombre de lapements $N_{pré\text{-}son10}$ ne diffère pas entre les groupes comme le confirme l'ANOVA qui ne révèle pas d'effet significatif du facteur Lésion ($F(1,78)=0,40$, ns), ni du facteur Intensité ($F(4,78)=1,08$, ns), ni de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(4,78)=1,49$, ns). Cette absence de différence entre les différents groupes nous autorise à utiliser le rapport de suppression comme variable dépendante pour mesurer la réponse conditionnée.

Les résultats (rapport de suppression, R_{10}) obtenus pour les différents groupes sont présentés à la figure 8.2. Les animaux PSEUDO et ENTO pour les intensités 0,0 mA, 0,1 mA et 0,2 mA présentent des rapports de suppression proches de 0,5 indiquant une absence de réponse émotionnelle conditionnée. Pour l'intensité 0,3 mA, les animaux PSEUDO présentent

un rapport proche de 0,4 (0,35 ± 0,06), alors que les animaux ENTO présentent un rapport plus faible (0,20 ± 0,07), suggérant que la réponse émotionnelle conditionnée est plus forte dans le groupe ENTO. Pour l'intensité 0,4 mA, les animaux PSEUDO et ENTO présentent des rapports proches de 0 (0,09 ± 0,05 et 0,10 ± 0,06, respectivement) indiquant une réponse émotionnelle conditionnée importante dans les deux groupes. Cette description des données est confirmée par l'ANOVA qui révèle un effet significatif du facteur Intensité ($F(4,78)=13,36$, $p<0,0001$), mais pas du facteur Lésion ($F(1,78)=0,45$, ns), ni de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(4,78)=1,54$, ns). L'analyse *post-hoc* de comparaisons multiples entre groupes montre que le groupe ENTO 0,3 mA présente un rapport de suppression significativement différent de celui du groupe ENTO 0,0 mA ($p<0,05$) et proche de la significativité en ce qui concerne la différence avec celui du groupe PSEUDO 0,3 mA ($p=0,06$). Enfin, les groupes PSEUDO 0,4 mA et ENTO 0,4 mA diffèrent des groupes PSEUDO 0,0 mA et ENTO 0,0 mA, respectivement ($p<0,001$ dans les deux cas).

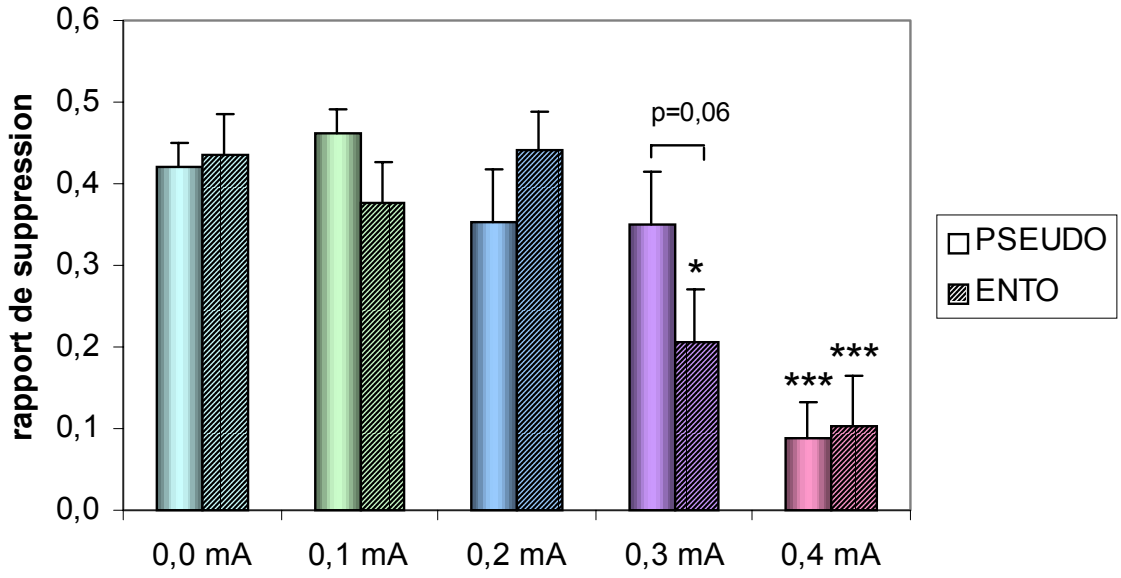


Figure 8.2 : Effet de la lésion du cortex entorhinal sur la réponse émotionnelle conditionnée. Moyenne (± erreur type) du rapport de suppression. * : $p<0,05$ et *** : $p<0,001$ par rapport au groupe 0,0 mA de la même condition chirurgicale. *La lésion du cortex entorhinal permet d'obtenir une réponse conditionnée à une intensité de choc (i.e. 0,3 mA) inférieure à celle nécessaire chez les animaux témoins (i.e. 0,4 mA).*

Discussion

Les résultats de cette expérience montrent que seule l'intensité de 0,4 mA permet d'obtenir une réponse émotionnelle conditionnée chez les animaux PSEUDO, alors qu'une réponse émotionnelle conditionnée est obtenue dès 0,3 mA chez les animaux ENTO.

Avant toute chose, il convient de noter que la présentation du son lors du test (5ème présentation) n'affecte pas le comportement de lapement des animaux du groupe PSEUDO 0,0 mA (rapport de suppression proche de 0,5), ce qui suggère que les animaux sont habitués au son, une réponse d'orientation à ce son pouvant en effet interférer avec le comportement de lapement. Le résultat comparable obtenu chez les animaux du groupe ENTO 0,0 mA suggère que la lésion n'affecterait pas cette habituation.

La présence d'une réponse conditionnée chez les animaux lésés à une intensité (0,3 mA) n'en produisant pas chez les animaux non lésés suggère, conformément à notre hypothèse, que la lésion du cortex entorhinal entraînerait une facilitation de la réponse émotionnelle conditionnée. Par contre, la lésion ne semble pas altérer la réponse à une intensité plus faible (0,2 mA), soulignant l'importance du choix de notre protocole d'intensité graduée par pallier de 0,1 mA pour mettre en évidence des effets aussi fins. A une intensité plus forte (0,4 mA), la lésion n'a pas d'effet apparent. L'absence d'effet de la lésion du cortex entorhinal sur le niveau de conditionnement de ce groupe est en accord avec les résultats de l'expérience 5 mais également avec les données publiées (Coutureau et coll., 1999 ; Coutureau et coll., 2000b ; Maren et Fanselow, 1995 ; Oswald et coll., 2002 ; Phillips et LeDoux, 1995 ; Shohamy et coll., 2000) et suggère que les conditions généralement utilisées dans ces expériences ne permettent pas de mettre en évidence un effet facilitateur de la lésion du cortex entorhinal sur le niveau de conditionnement des groupes non-préexposés, probablement du fait d'un effet "plancher". La facilitation obtenue dans cette expérience confirme en partie notre hypothèse, à savoir que la suppression d'inhibition latente induite par la lésion du cortex entorhinal pourrait être liée à une facilitation du conditionnement. En effet, les expériences 2 et 4 du chapitre précédent ayant montré qu'une augmentation de l'intensité du choc électrique de l'ordre de 0,1 mA suffisait à supprimer l'inhibition latente, la facilitation obtenue, bien que faiblement marquée, serait suffisante pour induire un déficit d'inhibition latente dans nos conditions expérimentales.

Bien que rares, des facilitations de conditionnement à la suite de lésions du cortex entorhinal ont déjà été décrites. Ainsi, la lésion du cortex entorhinal entraîne une forte résistance à l'extinction dans une situation de réponse émotionnelle conditionnée (Balezina et coll., 1981), induit une augmentation du conditionnement au son dans un protocole avec intervalle trace (Luck et coll., 2002), facilite l'aversion olfactive conditionnée avec un intervalle inter-stimuli long (Ferry et coll., 1996), mais également la rétention d'un conditionnement opérant (Gauthier et coll., 1983). Les mécanismes à l'origine de ces facilitations sont encore inconnus, mais la recherche d'un processus commun altéré après lésion du cortex entorhinal pourrait contribuer à leur identification. La plupart des facilitations s'expriment lors de la rétention ou par une résistance plus marquée à l'extinction, mais pas lors de l'acquisition (Balezina et coll., 1981 ; Gauthier et coll., 1983), ces données suggérant une implication du cortex entorhinal lors de la consolidation ou du rappel. D'ailleurs, plusieurs travaux confirment un tel rôle dans une tâche d'évitement passif (pour revue, voir Izquierdo et Medina, 1997 ; Izquierdo et McGaugh, 2000, voir également Izquierdo et coll., 1997 ; Pereira et coll., 2001, mais Baldi et coll., 1998).

En résumé, cette expérience a permis de montrer que la lésion du cortex entorhinal entraîne une facilitation de la réponse émotionnelle conditionnée. Néanmoins, le mécanisme impliqué dans cette facilitation demeure inconnu, et il convient dans un premier temps de vérifier si cette facilitation de conditionnement ne résulte pas d'une modification de la sensibilité aux chocs électriques ; cette vérification fait l'objet de l'expérience suivante.

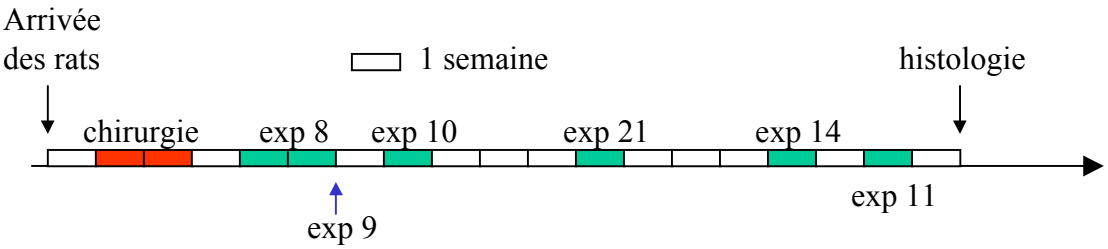
EXPERIENCE 9 : EFFET DE LA LESION DU CORTEX ENTORHINAL SUR LA REACTIVITE A DES CHOCS ELECTRIQUES APPLIQUES AUX PATTES

Introduction

Le but de cette expérience est de vérifier que la facilitation de conditionnement observée chez les animaux porteurs de lésions du cortex entorhinal (expérience précédente) ne résulte pas d'une modification du seuil de sensibilité aux chocs électriques. Pour ce faire, la sensibilité aux chocs électriques des animaux non choqués de l'expérience précédente (groupe 0,0 mA) a été évaluée.

Matériel et méthodes

Vingt quatre rats sont utilisés dans cette expérience, ces rats étant ceux du groupe 0,0 mA de l'expérience précédente (voir ci-dessous, l'expérience en cours étant figurée en bleu). Les effectifs après vérifications histologiques sont de 10 pour les animaux PSEUDO et de 6 pour les animaux ENTO.



Les animaux sont testés le lendemain de l'expérience 8. Ils sont toujours sous restriction hydrique (voir Hamm et Lyeth, 1984 pour les effets de la restriction alimentaire sur la nociception). Le matériel est identique à celui de l'expérience précédente. Les rats, placés dans la boîte de conditionnement (sans les tubes de lapement), sont soumis à des chocs de 0,8 s d'intensité croissante. L'intensité du premier choc est de 0,05 mA avec un incrément à intervalle variable (30, 45 ou 60 s) de 0,05 mA entre chocs. L'intensité minimale ($I_{sursaut}$) pour laquelle l'animal présente une réaction, à savoir un léger sursaut, est enregistrée, de même que l'intensité minimale (I_{saut}) pour laquelle l'animal présente une réponse de saut.

Les deux variables $I_{sursaut}$ et I_{saut} font l'objet d'une analyse de la variance à un facteur (facteur Lésion à 2 niveaux [PSEUDO ; ENTO]).

Résultats

Les résultats ($I_{sursaut}$ et I_{saut}) obtenus pour les différents groupes sont présentés à la figure 9.1. L'intensité minimale ($I_{sursaut}$) à laquelle les animaux perçoivent le choc, comme en atteste un léger sursaut, est similaire entre les animaux PSEUDO et ENTO (0,28 mA ± 0,02 et 0,30 mA ± 0,02, respectivement). De même l'intensité minimale (I_{saut}) pour laquelle les animaux présentent une réponse de saut, est similaire chez les animaux PSEUDO et ENTO (0,37 ± 0,03 et 0,38 ± 0,04, respectivement). Cette description est confirmée par l'ANOVA qui ne révèle pas d'effet du facteur lésion ($F(1,14)=0,80$, ns et $F(1,14)=0,10$, ns pour les variables $I_{sursaut}$ et I_{saut}, respectivement).

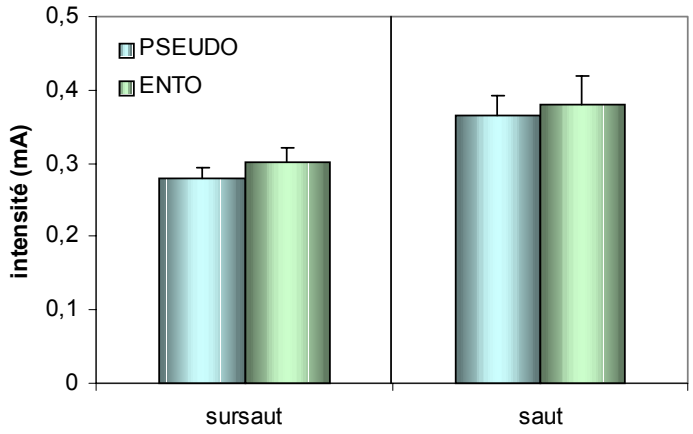


Figure 9.1 : Effet de la lésion du cortex entorhinal sur le seuil de sensibilité à des chocs électriques. Moyenne (± erreur type) de l'intensité minimale à laquelle survient le premier sursaut (à gauche) ou saut (à droite). *La lésion du cortex entorhinal ne modifie pas le seuil d'apparition de réponses comportementales à des chocs électriques.*

Discussion

Les résultats de cette expérience montrent que la lésion du cortex entorhinal n'affecte pas le niveau de sensibilité à des chocs électriques.

Ces résultats confirment l'étude de Ueki et collaborateurs (Ueki et coll., 1994) qui montre que les seuils de réponses (vocalisation ou saut) à des chocs électriques sont très similaires chez des animaux porteurs de lésions du cortex entorhinal et leurs témoins pseudo-opérés, suggérant que la lésion n'affecte pas la sensibilité des animaux aux chocs. Cette absence

d'effet ne nous permet cependant pas d'exclure toute modification du traitement du SI chez les animaux lésés.

En résumé, cette expérience n'a pas permis de mettre en évidence une modification du seuil de sensibilité aux chocs électriques chez les animaux lésés. Néanmoins, ces résultats n'écartent pas la possibilité d'une modification de perception de l'intensité du choc par l'animal. Des travaux chez l'Homme ayant montré que l'anxiété pouvait augmenter l'intensité perçue de la douleur et que ces modifications étaient associées avec des changements d'activation au sein du cortex entorhinal (Ploghaus et coll., 2001), l'expérience suivante à été conduite afin d'évaluer les effets de la lésion du cortex entorhinal sur les niveaux d'anxiété.

EXPERIENCE 10 : EFFET DE LA LESION DU CORTEX ENTORHINAL SUR L'ANXIETE

Introduction

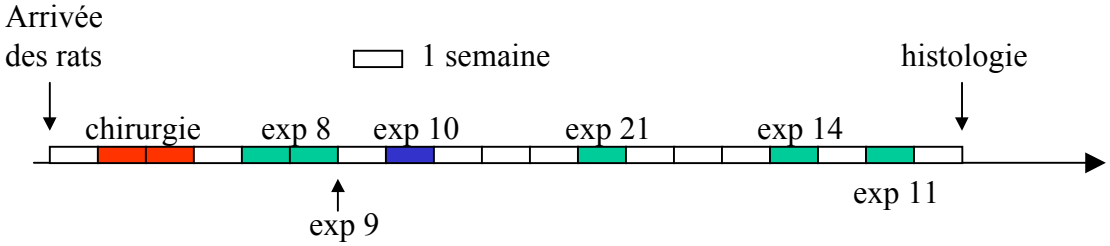
Le but de cette expérience est d'évaluer les effets de la lésion du cortex entorhinal sur l'anxiété. Parmi les différents tests comportementaux permettant d'évaluer expérimentalement l'anxiété chez l'animal (pour revue, voir Menard et Treit, 1999), nous avons utilisé le test du labyrinthe en croix surélevé (pour revue, voir Hogg, 1996 ; Wall et Messier, 2001). Ce test est basé sur l'aversion naturelle que présentent les rongeurs pour les espaces élevés et ouverts. Néanmoins, la composante anxiogène de ce test peut être modulée en agissant sur le niveau d'éclairage du labyrinthe (Bertoglio et Carobrez, 2002 ; Cardenas et coll., 2001 ; Griebel et coll., 1993, mais Becker et Grecksch, 1996), paramètre que nous avons fait varier afin d'évaluer les effets de la lésion du cortex entorhinal sur différents niveaux d'anxiété.

Dans le labyrinthe, l'animal a tendance à éviter les deux branches ouvertes, limitant son activité aux deux branches fermées. L'augmentation de l'activité dans les branches ouvertes indique une diminution de l'anxiété, alors qu'un changement dans le nombre total d'entrées indique un effet non spécifique sur l'activité locomotrice.

Matériel et méthodes

Animaux

Les rats sont ceux de l'expérience 8 (voir ci-dessous, l'expérience en cours étant figurée en bleu), ayant permis de mettre en évidence l'effet facilitateur de la lésion du cortex entorhinal sur la réponse émotionnelle conditionnée. A l'issue de l'expérience 8, les rats ont accès à la nourriture et à la boisson *ad libitum* pendant 6 jours avant le début de cette expérience.



Matériel

Le labyrinthe en croix, en plexiglas noir, comprend cinq secteurs consistant en deux branches ouvertes (nord et sud ; 50 x 11 x 1cm), deux branches fermées (est et ouest ; 50 x 11 x 40 cm) et une plate-forme centrale (11 x 11 cm). Le labyrinthe est surélevé à 70 cm du sol (voir figure 10.1). Une caméra vidéo est positionnée verticalement au-dessus du labyrinthe et reliée à un écran placé dans une pièce adjacente. Chaque passage de l'animal entre branches et plate-forme centrale (lorsque les quatre pattes sont passées) est signalé manuellement à un ordinateur programmé pour transformer ces informations en nombre d'entrées et durées passées dans chacun de ces secteurs.



Figure 10.1 : Photographie du labyrinthe en croix surélevé.

Protocole

Les animaux étant placés dans une animalerie distante de la salle d'expérimentation, avant le test, l'animal est isolé dans une cage similaire à sa cage d'habitation afin d'être transporté vers la salle d'expérimentation. Après une période de 5 minutes dans cette salle (acclimatation), l'animal est placé sur la plate-forme centrale du labyrinthe, face à la branche

nord (ouverte), la séance durant 5 minutes. Le labyrinthe est nettoyé avec de l'éthanol à 70% après le passage de chaque animal.

Trois conditions de luminosité ont été utilisées : une condition faible, une condition moyenne et une condition forte. Pour la condition faible, une ampoule de 40 W est placée à la verticale du labyrinthe. L'intensité lumineuse mesurée à l'extrémité de chacune des quatre branches est de 20 Lux, celle au niveau de la plate forme centrale étant de 25 Lux. Pour la condition moyenne, deux ampoules de 80 W sont positionnées dans le prolongement des branches fermées. Dans ces conditions, l'intensité lumineuse mesurée à l'extrémité des branches est de 2,5 Lux et de 32,5 Lux pour les branches fermées et ouvertes respectivement, celle au niveau de la plate forme centrale étant de 7,5 Lux. Pour la condition forte, trois ampoules de 100 W sont positionnées dans le prolongement des branches fermées et deux ampoules de 60 W sont positionnées dans le prolongement des branches ouvertes. Dans ces conditions, l'intensité lumineuse mesurée à l'extrémité des branches est de 5 Lux et de 135 Lux pour les branches fermées et ouvertes, respectivement, celle au niveau de la plate forme centrale étant de 17,5 Lux.

Les effectifs après vérification histologique sont les suivant : PSEUDO-faible (n=14), PSEUDO-moyenne (n=19), PSEUDO-forte (n=17), ENTO-faible (n=13), ENTO-moyenne (n=12) et ENTO-forte (n=12).

Analyse des données

Les mesures de temps passé dans chacune des quatre branches (T_N, T_S, T_E et T_W) sont utilisées pour calculer le pourcentage de temps passé dans les branches ouvertes (% ouvert = $(T_S + T_N) \times 100 / (T_S + T_E + T_W + T_N)$). De même, les mesures du nombre d'entrées dans chacune des quatre branches (E_N, E_S, E_E et E_W) sont utilisées pour calculer le pourcentage d'entrée dans les branches ouvertes (% entrée = $(E_S + E_N) \times 100 / (E_S + E_E + E_W + E_N)$). Ces deux variables fournissent un indice d'anxiété. Afin d'avoir un indice d'activité, le nombre total d'entrées (N entrées = $E_N + E_S + E_E + E_W + E_C$) est également calculé.

Les trois variables N entrées, % ouvert et % entrée font l'objet d'une analyse de variance (ANOVA) à deux facteurs (facteur Lésion à 2 niveaux [PSEUDO; ENTO] et facteur Condition à 3 niveaux [Faible ; Moyenne ; Forte]). Les différences entre les groupes sont établies par des comparaisons *post-hoc* avec le test de Newman-Keuls.

Résultats

Quelle que soit la condition de luminosité, les animaux ENTO présentent un nombre total d'entrée, N entrées, supérieur à celui des animaux PSEUDO (tableau 10.1). Cette description des données est confirmée par l'ANOVA qui révèle un effet significatif du facteur Lésion ($F(1,81)=10,39$, $p<0,01$), mais pas du facteur Condition ($F(2,81)=0,54$, ns), ni de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(2,81)=0,29$, ns).

	faible	moyenne	forte
PSEUDO	41,4 ± 2,1	38,1 ± 1,7	37, 9 ± 1,7
ENTO	45,2 ± 2,0	44,3 ± 3,0	45,1 ± 2,8

Tableau 10.1 : Effet de la lésion du cortex entorhinal sur l'activité dans le labyrinthe en croix surélevé. Moyenne (± erreur type) du nombre total d'entrées, N entrées.

Les résultats (% ouvert) obtenus pour les animaux PSEUDO et ENTO sont présentés à la figure 10.2. Chez les animaux PSEUDO, le pourcentage de temps passé dans les branches ouvertes évolue en fonction de la condition de luminosité, les animaux passant autant de temps dans les branches ouvertes que dans les branches fermées dans la condition de faible luminosité et moins de temps dans les branches ouvertes que dans les branches fermées dans la condition de forte luminosité. Chez les animaux ENTO, cette évolution du temps passé dans les branches ouvertes en fonction de la condition de luminosité ne semble pas être présente, ceux-ci passant autant de temps dans les branches ouvertes que dans les branches fermées, quelle que soit la condition de luminosité. Cette description des données est confirmée en partie par l'ANOVA qui révèle un effet des facteurs Lésion ($F(1,81)=9,55$, $p<0,01$), Condition ($F(2,81)=4,86$, $p<0,05$), mais pas de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(2,81)=0,69$, ns). L'analyse *post-hoc* sur le facteur Condition indique que la condition Forte diffère de la condition Faible ($p<0,01$), la condition Moyenne tendant à différer des deux autres ($p=0,09$ dans les deux cas). L'analyse *post-hoc* de comparaisons multiples entre groupes montre que le groupe PSEUDO Forte diffère du groupe PSEUDO Faible ($p<0,05$) et tend à différer du groupe ENTO Forte ($p=0,07$).

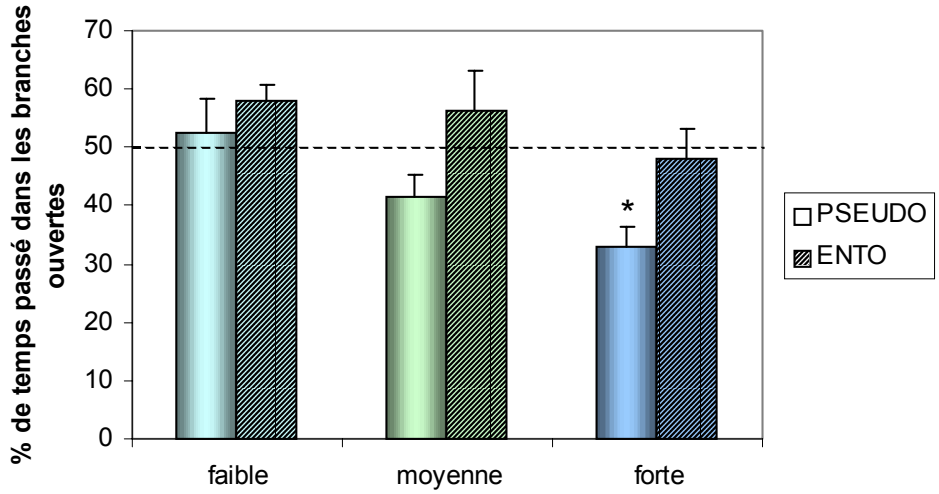


Figure 10.2 : Effet de la lésion du cortex entorhinal sur l'anxiété en fonction de la condition de luminosité. Moyenne (± erreur type) du pourcentage de temps passé dans les branches ouvertes, % ouvert. * : p<0,05 par rapport au groupe PSEUDO Faible. *Chez les animaux PSEUDO, mais pas chez les animaux ENTO, le pourcentage de temps passé dans les branches ouvertes diminue lorsque le niveau de luminosité augmente.*

Concernant le pourcentage d'entrée dans les branches ouvertes, % entrée (tableau 10.2), il est plus élevé chez les animaux ENTO que chez les animaux PSEUDO, et ce quelle que soit la condition lumineuse, ce pourcentage tendant à diminuer au fur et à mesure que la luminosité augmente. Cette description des données est confirmée par l'ANOVA qui révèle un effet du facteur Lésion ($F(1,81)=11,25$, $p<0,01$), mais pas du facteur Condition bien que celui-ci soit proche de la significativité ($F(2,81)=2,90$, $p=0,06$), ni de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(2,81)=0,45$, ns). L'analyse *post-hoc* sur le facteur Condition indique que la condition Forte diffère de la condition Faible ($p<0,05$). L'analyse *post-hoc* de comparaisons multiples entre groupes montre que le groupe PSEUDO Moyenne diffère du groupe ENTO Moyenne ($p<0,05$).

	faible	moyenne	forte
PSEUDO	57,7 ± 4,6	51,4 ± 2,3	50,1 ± 2,9
ENTO	65,5 ± 1,6	64,1 ± 4,5 *	57,0 ± 3,4

Tableau 10.2 : Effet de la lésion du cortex entorhinal sur l'anxiété en fonction de la condition de luminosité. Moyenne (± erreur type) du pourcentage d'entrées dans les branches ouvertes, % entrée. * : p<0,05 par rapport au groupe PSEUDO Moyenne.

Discussion

Les résultats de cette expérience montrent que le temps passé dans les branches ouvertes évolue en fonction des conditions lumineuses. Ainsi, dans la condition de faible luminosité, ce temps est similaire à celui passé dans les branches fermées, suggérant une absence d'anxiété, et ce aussi bien chez les animaux PSEUDO que ENTO. Par contre, alors que ce temps diminue dans les autres conditions de luminosité chez les animaux PSEUDO, suggérant une augmentation du niveau d'anxiété, cet effet ne s'observe pas chez les animaux ENTO. Cette diminution de l'anxiété observée chez les animaux ENTO se retrouve également avec le nombre d'entrées dans les branches ouvertes. Enfin, les animaux ENTO présentent une activité locomotrice supérieure à celle des animaux PSEUDO, comme le suggère leur nombre d'entrées totales plus élevé dans les différents secteurs.

Le labyrinthe en croix surélevé est basé sur un comportement spontané (ou inconditionné) de l'animal, à savoir son aversion pour les espaces élevés et ouverts. Ainsi, lorsque l'animal est placé dans le labyrinthe, il a tendance à éviter les branches ouvertes. Les résultats que nous obtenons avec la condition de faible luminosité ne semblent pas confirmer cette idée puisque ni les animaux lésés, ni leurs témoins pseudo-opérés, ne présentent d'aversion pour les branches ouvertes. Cet effet ne peut pas s'expliquer par des conditions de luminosité trop faible au vu des nombreux auteurs utilisants des conditions de luminosité similaires ou inférieures (Becker et Grecksch, 1996 ; Jones et King, 2001 ; Shah et Treit, 2003) ou tout simplement des résultats obtenus au laboratoire avec ces mêmes conditions (30% de temps passé dans les branches ouvertes et 20% d'entrées dans les branches ouvertes). Cet effet (diminution de l'aversion pour les branches ouvertes) est généralement observé suite à l'administration de composés anxiolytiques (Menard et Treit, 1999), laissant ainsi supposer que nos animaux (aussi bien les pseudo-opérés que les lésés) présentent un niveau d'anxiété particulièrement réduit. Il existe plusieurs manipulations qui peuvent moduler les niveaux généraux de stress et de ce fait modifier le comportement des animaux dans le labyrinthe en croix surélevé (pour revue, voir Hogg, 1996). Par exemple, une manipulation répétée des animaux plusieurs jours avant l'expérimentation peut permettre de les habituer aux différents stress auxquels ils sont soumis immédiatement avant d'être testés, et ainsi diminuer leur niveau d'anxiété. Ces animaux ayant été utilisés au préalable (expérience 8), cette explication

pourrait rendre compte de l'effet observé (absence d'anxiété dans le test effectué à faible luminosité).

Malgré un niveau d'anxiété très faible dans notre expérience, nos résultats confirment que l'illumination semble être un paramètre important dans ce test comportemental (Bertoglio et Carobrez, 2002 ; Cardenas et coll., 2001 ; Griebel et coll., 1993, mais Becker et Grecksch, 1996). Dans nos conditions de luminosité Moyenne et Forte, nous avons pu mettre en évidence que la lésion du cortex entorhinal augmente le temps passé dans les branches ouvertes (ainsi que le nombre d'entrées dans les branches ouvertes), suggérant une diminution de l'anxiété. Cette diminution d'anxiété par la lésion s'accompagne également d'une augmentation de l'activité locomotrice. Il est important de noter que l'effet anxiolytique de la lésion ne résulte pas d'une augmentation non spécifique de la locomotion, mais qu'à l'inverse, c'est le profil anxiolytique qui impose une augmentation de l'activité (entrées dans les branches ouvertes). Nos résultats suggèrent donc que le cortex entorhinal serait impliqué dans l'anxiété, tout au moins dans le labyrinthe en croix surélevé. Une diminution d'anxiété dans ce test a déjà été décrite avec des lésions unilatérales du cortex entorhinal (Glasier et coll., 1995). D'autres arguments viennent appuyer cette suggestion comme notamment l'activation de cette structure, révélée par l'expression de la protéine Fos, suite à l'exposition à un labyrinthe en croix surélevé (Silveira et coll., 1993). Néanmoins, Barros et collaborateurs (Barros et coll., 2000) n'ont mis en évidence aucune modification du niveau d'anxiété dans un labyrinthe en croix surélevé, après infusion de divers composés (antagonistes des récepteurs NMDA, AMPA, métabotropiques) dans le cortex entorhinal. Cette absence d'effet pourrait résulter d'un niveau basal d'anxiété trop faible dans leur étude (44% du temps passé dans les branches ouvertes), ne permettant pas de mettre en évidence un effet anxiolytique.

Des lésions de l'hippocampe ventral (Kjelstrup et coll., 2002), du cortex préfrontal médian (Lacroix et coll., 2000b ; Shah et Treit, 2003, mais Jinks et McGregor, 1997), et du septum (Menard et Treit, 1996) ont également été décrites comme ayant des effets anxiolytiques. Le cortex entorhinal se projetant massivement vers ces différentes structures (cf. introduction générale), une altération du fonctionnement de ces dernières consécutivement à la lésion du cortex entorhinal peut en effet être envisagée. Il est d'ailleurs intéressant de noter que ces structures exercent un rétrocontrôle inhibiteur sur l'axe HPA (Herman et Cullinan, 1997). Les effets anxiolytiques ainsi observés consécutivement à leur lésion pourraient résulter d'une

perte d'inhibition de l'axe HPA et donc d'un niveau de corticostérone trop élevé (Andreatini et Leite, 1994, mais Calvo et coll., 1998). Cette hypothèse sera testée consécutivement à la lésion du cortex entorhinal dans l'expérience suivante. Par ailleurs, où tant l'hippocampe ventral que le cortex préfrontal et le septum médian se projetant en retour sur le cortex entorhinal (cf. introduction générale), il est possible que ce dernier représente une zone de convergence ou d'intégration. Une interaction possible avec le système sérotoninergique pourrait alors être envisagée au vu de son implication dans l'anxiété (Graeff et coll., 1996). Cependant, alors que des lésions du noyau médian du raphé semblent présenter un effet anxiolytique dans le labyrinthe en croix surélevé (Andrade et Graeff, 2001), des lésions du noyau dorsal du raphé, structure qui est à l'origine de l'innervation sérotoninergique du cortex entorhinal (cf. introduction générale), sont dépourvues d'effet (Rex et coll., 2003). Un autre candidat potentiel pour une telle intégration serait le noyau accumbens, puisque le blocage des influences glutamatergiques dans cette structure, par des antagonistes des récepteurs NMDA (mais également non-NMDA), produit un effet anxiolytique dans le labyrinthe en croix surélevé (Martinez et coll., 2002).

En résumé, les résultats de cette expérience montrent que la lésion du cortex entorhinal diminue l'anxiété. L'expérience suivante à été conduite afin d'évaluer les effets de la lésion du cortex entorhinal sur la libération de corticostérone induite suite à l'exposition à un stress comportemental.

EXPERIENCE 11 : EFFET DE LA LESION DU CORTEX ENTORHINAL SUR LE NIVEAU DE CORTICOSTERONE PLASMATIQUE

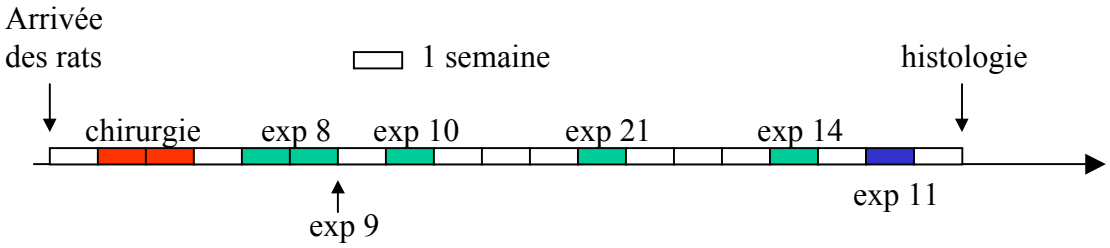
Introduction

L'hippocampe a reçu une attention considérable comme régulateur potentiel de l'axe HPA, *via* un rétrocontrôle inhibiteur (Herman et Cullinan, 1997). De même, d'autres structures ont été décrites comme pouvant participer à cette régulation, comme par exemple le cortex préfrontal (Shah et Treit, 2003) ou le subiculum ventral (Herman et coll., 1998). Malgré l'innervation privilégiée de l'hippocampe en provenance du cortex entorhinal, l'implication de ce dernier comme régulateur potentiel de l'axe HPA n'a été que très peu étudiée (Umegaki et coll., 2003). Le but de cette expérience est d'évaluer les effets de la lésion du cortex entorhinal sur les réponses comportementale et adrénocorticale (niveau de corticostérone plasmatique) à un stress. Le stress utilisé dans cette expérience est un stress qualifié de "*processive*", à savoir l'exposition à un environnement nouveau, dans le cas présent un champ ouvert ("*open field*"), sachant que ce dernier est susceptible d'augmenter le niveau de corticostérone plasmatique (Emmert et Herman, 1999 ; Plyusnina et Oskina, 1997).

Matériel et méthodes

Animaux

Quinze rats sont utilisés dans cette expérience, ces rats étant ceux de l'expérience 8 (voir ci-dessous, l'expérience en cours étant figurée en bleu ; ces animaux sont ceux qui n'ont pas reçu de *d*-amphétamine, mais son solvant, au cours de l'expérience 14). L'expérience a lieu 3 mois après la fin de l'expérience 8. Les effectifs après vérifications histologiques sont de 7 pour les animaux PSEUDO et de 4 pour les animaux ENTO.



Matériel

L'*open field* consiste en une enceinte carrée (65 x 65 cm) divisée virtuellement en 25 quadrants, 16 périphériques et 9 centraux. La luminosité au centre de l'enceinte est de 100 Lux. Une caméra vidéo est positionnée verticalement au-dessus de l'*open field*, celle-ci est reliée à un écran, ainsi qu'à un magnétoscope, placés dans une pièce adjacente.

Protocole

Une semaine avant le test, les animaux sont placés dans des cages individuelles (isolés) dans une animalerie proche de la salle d'expérimentation. Le jour du test, l'animal est transporté vers la salle d'expérimentation puis est immédiatement placé dans l'*open field*, face contre la paroi, pour une durée de 5 minutes. A l'issue de la séance, l'animal est reconduit dans l'animalerie. Après chaque essai, l'*open field* est nettoyé avec de l'éthanol à 70%. Vingt cinq minutes après la fin de la séance (sortie de l'*open field*), le sang de l'animal est prélevé au niveau de la queue (petite entaille réalisée sous légère contention). Les animaux sont testés entre 11h et 13h afin de limiter les variations induites par les fluctuations circadiennes du taux de corticostérone circulant. Le lendemain, un nouveau prélèvement est réalisé (mais cette fois-ci sans être soumis à l'*open field*) et ce à la même heure que la veille pour chaque animal.

Dosage de la corticostérone plasmatique

Le sang est prélevé avec des tubes capillaires (Microvette CB 300) contenant de l'EDTA. Les tubes sont ensuite centrifugés (12000g pendant 15 minutes à 4°C). Le plasma est alors récupéré et conservé à -20°C. Le niveau de corticostérone plasmatique est quantifié par dosage radio-immunologique à l'aide d'un kit (corticosterone DA ^{125}I test kit, ICN pharmaceuticals, Inc Diagnostics Division, Costa Mesa, CA).

Préparation des échantillons (extraction éthérée) : Après décongélation, on prélève 100 µl de plasma, auquel on ajoute 4 ml d'éther (dans des tubes à essais). Après agitation (vortex), les tubes sont centrifugés (1500 rpm, 3 min, 4°C) afin de séparer la phase aqueuse de la phase organique. On congèle la phase liquide en plaçant la base du tube dans de l'azote liquide, de façon à récupérer la phase organique. Cette dernière est alors centrifugée sous vide, afin

d'améliorer l'évaporation de l'éther. Les extraits secs sont repris dans 1 ml de PBS (0,16 M, pH 7,4), puis après agitation (vortex), sont placés au bain-marie à 37°C pendant 15 minutes.

Dosage radio-immunologique : Dans des tubes pour dosage radio-immunologique, les solutions suivantes sont déposées dans cet ordre : le tampon, les étalons, les échantillons (extraits secs), le traceur et les anticorps (tableau ci-dessous). Les étalons et les échantillons sont agités (vortex) avant prélèvement.

	Nombre de tubes	tampon	Etalons / Echantillons	traceur	anticorps
Activité totale	3			50 µl	
Non spécifique	3	25 µl		50 µl	50 µl
Etalon 5 ng/ml	3		25 µl	50 µl	50 µl
Etalon 12,5 ng/ml	3		25 µl	50 µl	50 µl
Etalon 25 ng/ml	3		25 µl	50 µl	50 µl
Etalon 50 ng/ml	3		25 µl	50 µl	50 µl
Etalon 100 ng/ml	3		25 µl	50 µl	50 µl
Etalon 250 ng/ml	3		25 µl	50 µl	50 µl
Etalon 500 ng/ml	3		25 µl	50 µl	50 µl
Etalon 1000 ng/ml	3		25 µl	50 µl	50 µl
Contrôle qualité (faible)	3		25 µl	50 µl	50 µl
Contrôle qualité (intermédiaire)	3		25 µl	50 µl	50 µl
Contrôle qualité (fort)	3		25 µl	50 µl	50 µl
Echantillons	2		25 µl	50 µl	50 µl
Non spécifique	2	25 µl		50 µl	50 µl

Les tubes sont agités puis placés à 4°C pendant une nuit (incubation). La fraction libre est alors séparée de la fraction liée en ajoutant aux tubes 500 µl de suspension de charbon-dextran dans tous les tubes sauf ceux destinés à la mesure de l'Activité totale. Après agitation, les tubes sont mis à incuber pendant 25 min à 4°C, avant d'être centrifugés à 4000 rpm (4°C) pendant 15 min (sauf les tubes pour l'Activité totale). Le surnageant est alors aspiré à l'aide

d'une pompe à vide, les tubes bouchés et placés dans le compteur pour le comptage de la radioactivité.

Analyse des données

Pour la partie comportementale (*open field*), le nombre de quadrants traversés (Q_{min} ; représentatif de l'activité locomotrice) par bloc de 1 minute est comptabilisé, de même que le nombre total (sur les 5 min de test) de quadrants traversés, le nombre de quadrants périphériques traversés, le nombre de quadrants centraux traversés, le nombre total de redressement et le nombre de défécations. La variable Q_{min} fait l'objet d'une analyse de variance (ANOVA) à deux facteurs (facteur Lésion à 2 niveaux [PSEUDO ; ENTO] et facteur Bloc à 5 niveaux). Les autres variables mesurées font l'objet d'une analyse de variance (ANOVA) à un facteur (facteur Lésion à 2 niveaux [PSEUDO ; ENTO]). Les différences entre les groupes sont établies par des comparaisons *post-hoc* avec le test de Newman-Keuls.

Pour la partie dosage (corticostérone), les niveaux de corticostérone plasmatique font l'objet d'une analyse de variance (ANOVA) à deux facteurs (facteur Lésion à 2 niveaux [PSEUDO ; ENTO] et facteur Induction à 2 niveaux [Basal ; Induit]). Les différences entre les groupes sont établies par des comparaisons *post-hoc* avec le test de Newman-Keuls.

Résultats

Les résultats comportementaux obtenus pour les différents groupes sont présentés à la figure 11.1 pour l'évolution temporelle de l'activité locomotrice (Q_{min}) et dans le tableau 11.1 pour les autres variables. Pour l'ensemble de ces mesures, les animaux ENTO ne diffèrent pas des animaux PSEUDO. Cette description des résultats est confirmée par l'ANOVA qui, pour l'activité locomotrice, révèle un effet du facteur Bloc ($F(4,36)=9,70$, $p<0,0001$), mais pas du facteur Lésion ($F(1,36)=1,11$, ns), ni de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(4,36)=0,19$, ns). L'analyse *post-hoc* sur le facteur Bloc montre que le bloc 1 diffère de tous les autres ($p<0,01$ au moins), que le bloc 2 diffère du bloc 5 ($p<0,05$) et que les blocs 3 et 4 tendent à différer du bloc 5 ($p=0,06$ et $p=0,07$, respectivement). L'ANOVA pour les autres variables ne révèle aucun effet du facteur Lésion, que ce soit pour le nombre total (sur les 5 min de test) de quadrants traversés ($F1,9)=1,11$, ns), le nombre de quadrants périphériques traversés ($F(1,9)=3,38$, ns), le nombre de quadrants centraux traversés ($F(1,9)=0,78$, ns), le nombre

total de redressement (F(1,9)=0,33, ns) et le nombre de défécations, bien que celui-ci soit proche de la significativité (F(1,9)=4,34, p=0,07).

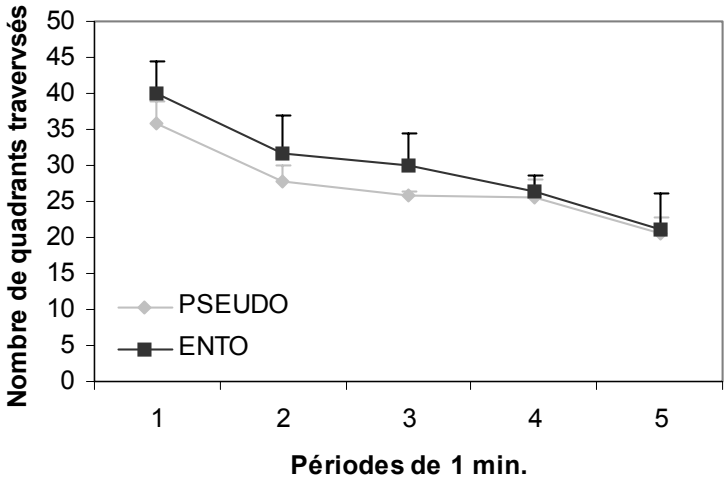


Figure 11.1 : Effet de la lésion du cortex entorhinal sur l'activité locomotrice. Moyenne (± erreur type) du nombre de quadrants traversés pendant 1 minute, Q_{min}.

	total	Périphériques	centraux	redressements	Défécations
PSEUDO	135,1 ± 5,6	98 ± 7,7	37,1 ± 4,3	51,6 ± 3,8	3 ± 0,7
ENTO	149,5 ± 15,6	119,8 ± 7,9	29,8 ± 8,3	48 ± 4,7	5,3 ± 0,9

Tableau 11.1 : Effet de la lésion du cortex entorhinal sur divers indices comportementaux mesurés dans *l'open field.* Moyenne (± erreur type) du nombre total de quadrants traversés, du nombre de quadrants périphériques traversés, du nombre de quadrants centraux traversés, du nombre de redressements et du nombre de défécations.

Les résultats du dosage sont présentés à la figure 11.2. Les niveaux de corticostérone plasmatiques observés après induction sont supérieurs à ceux mesurés 24 heures après. Les niveaux ne semblent pas différer entre les animaux PSEUDO et ENTO, à l'exception du niveau basal qui semble être inférieur chez les animaux ENTO. Cette description des résultats est confirmée en partie par l'ANOVA qui révèle un effet Induction (F(1,9)=20,66, p<0,01), mais pas du facteur Lésion (F(1,9)=0,07, ns), ni de l'interaction entre ces deux facteurs (F(1,9)=0,01, ns). L'analyse *post-hoc* de comparaisons multiples entre groupes indique que les niveaux induits sont supérieurs aux niveaux basaux et ce aussi bien chez les animaux PSEUDO que ENTO (p<0,05 dans les deux cas).

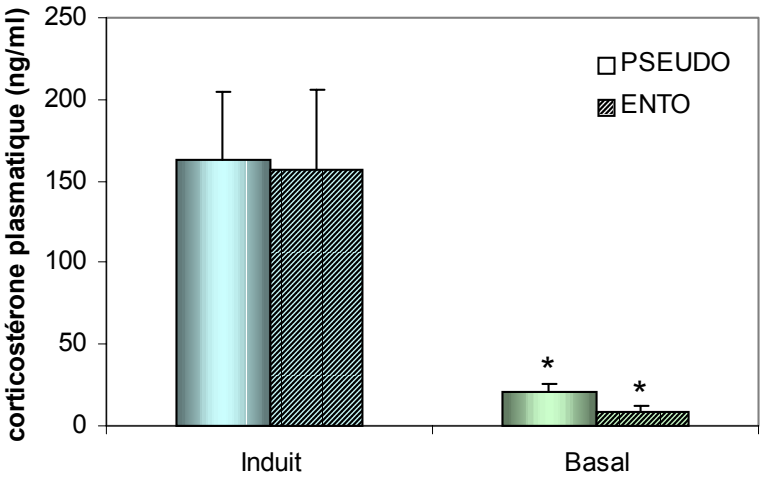


Figure 11.2 : Effet de la lésion du cortex entorhinal sur le niveau plasmatique de corticostérone. Moyenne (± erreur type) du niveau induit et du niveau basal. * : $p<0,05$ par rapport au niveau induit de la même condition chirurgicale. *La lésion du cortex entorhinal n'affecte pas le niveau de corticostérone plasmatique mesuré après exposition à un open field (niveau induit), ni son niveau basal.*

Discussion

Les résultats de cette expérience montrent que la lésion du cortex entorhinal n'affecte pas le niveau de réactivité mesuré dans un *open field*, ni le niveau de corticostérone plasmatique.

D'un point de vue comportemental, la lésion du cortex entorhinal ne présente aucun effet, que ce soit sur les indices d'activité locomotrice ou d'anxiété. Bien qu'une augmentation de l'activité locomotrice dans le test de l'*open field* ait été décrite suite à une lésion du cortex entorhinal (Lasher et Steward, 1981), que l'atteinte concerne la partie médiane ou latérale (Fass, 1983), il est important de noter que cette hyperactivité n'est que transitoire et disparaît environ 10 jours après la lésion (Fass, 1983 ; Steward et coll., 1977). Ainsi, lorsqu'un délai postopératoire de six semaines est utilisé, aucun effet n'est observé (Hagan et coll., 1992). Dans notre étude, un délai d'au moins 3 mois sépare les opérations et le passage des animaux dans le test, nos résultats sont donc en accord avec ces différentes observations. Par ailleurs, aucun effet anxiolytique n'a été obtenu dans cette expérience, ce qui contraste avec les résultats de l'expérience précédente. Il ne faut cependant pas oublier la possibilité que le labyrinthe en croix surélevé et l'*open field* puissent présenter des différences qualitatives, mais également quantitatives (cf. par exemple l'absence d'effet anxiolytique de la lésion dans la condition de faible luminosité dans l'expérience précédente), concernant l'anxiété

induite/mesurée. Par exemple, alors que la lésion du subiculum ventral (incluant en partie l'hippocampe ventral) augmente le niveau d'anxiété dans le test de l'*open field* (Herman et coll., 1998), la lésion de l'hippocampe ventral (incluant le subiculum ventral) diminue le niveau d'anxiété dans le labyrinthe en croix surélevé (Kjelstrup et coll., 2002).

L'exposition à un *open field* (nouvel environnement) produit une augmentation de la libération de corticostérone (comparé au niveau basal mesuré le lendemain) et celle-ci est identique chez les animaux pseudo-opérés et les animaux lésés. Les niveaux obtenus (163,5 et 156,8 ng/ml pour les animaux pseudo-opérés et lésés, respectivement) sont de l'ordre de ceux généralement obtenus en utilisant des conditions expérimentales similaires (5 min de test, prélèvement 30 minutes après le début du test), les niveaux diminuant à délais plus longs (Emmert et Herman, 1999). L'absence d'effet de la lésion sur les niveaux de corticostérone confirme l'absence d'effet obtenu au niveau comportemental et suggère que la lésion n'affecterait pas la réponse, aussi bien hormonale que comportementale, induite par la nouveauté (en tant que stress). Cependant, il serait imprudent de conclure quant à l'absence d'implication du cortex entorhinal dans les réponses aux stress. En effet, il a été décrit (Umegaki et coll., 2003) que la lésion du cortex entorhinal diminue la libération d'ACTH (hormone corticotropique ; sécrétée en amont de la corticostérone dans l'axe HPA) induite par une immobilisation, (stress "*processive*") mais pas celle induite par une hypoglycémie provoquée par l'administration d'insuline (stress systémique). Sur cette base, les auteurs suggèrent que le cortex entorhinal serait impliqué uniquement dans les réponses à des stress qualifiés de "*processive*". Une dissociation similaire a déjà été observée suite à des lésions du subiculum ventral (Herman et coll., 1998), les auteurs observant une facilitation par la lésion de la libération de corticostérone induite par l'exposition à un *open field* (stress "*processive*") mais pas de celle induite par une inhalation d'éther (stress systémique). Nos résultats ne nous permettent pas de généraliser les effets de la lésion du cortex entorhinal à un autre type de stress "*processive*", à savoir la nouveauté que représente le test de l'*open field*. Bien que l'existence de deux circuits généraux pour chacun de ces stress ("*processive*" versus systémique) ait été proposée (Herman et coll., 1996), une telle généralisation n'est pas étayée par certaines études lésionnelles. En effet, les libérations de corticostérone induites par l'exposition à une boîte familière fortement éclairée ou à un *open field* ou encore suite à une contention ont été décrites, respectivement comme étant diminuées (Kjelstrup et coll., 2002 ; Tuvnes et coll., 2003), augmentées (Herman et coll., 1998) ou non affectées (Tuvnes et coll.,

2003) consécutivement à des lésions de l'hippocampe, alors qu'il s'agit dans les trois cas de stress dit "*processive*".

Le niveau basal de corticostérone plasmatique obtenu dans cette expérience chez les animaux témoins est comparable à ceux généralement observés chez des rats de la même souche (Bizon et coll., 2001). Bien que le niveau basal des animaux lésés (8,6 ng/ml) soit inférieur à celui des animaux pseudo-opérés (20,5 ng/ml), cette différence n'est pas confirmée d'un point de vue statistique. Cependant, au vu de l'importance quantitative de cette différence et du faible nombre d'animaux dans le groupe lésé, ce résultat nécessite d'être confirmé avant de pouvoir conclure quant à l'implication du cortex entorhinal dans un contrôle tonique de l'axe HPA.

En résumé, ces résultats montrent que la lésion du cortex entorhinal n'affecte pas le niveau basal de corticostérone ni les réponses comportementale ou hormonale induites par la confrontation des animaux à un open field (celle-ci pouvant être considérée comme stress).

EXPERIENCE 12 : EFFET DE L'INACTIVATION REVERSIBLE DU CORTEX ENTORHINAL SUR L'INHIBITION LATENTE

Introduction

Le but de cette expérience est d'identifier la phase du protocole (préexposition et/ou conditionnement) au cours de laquelle l'intégrité fonctionnelle du cortex entorhinal est requise pour que s'exprime le phénomène d'inhibition latente. Une telle approche est rendue possible par l'utilisation d'une technique d'inactivation réversible. Initialement développées afin de s'affranchir de la plasticité compensatoire qui accompagne les lésions permanentes, et ainsi permettre une inférence quant au rôle fonctionnel de la structure inactivée, ces techniques présentent également l'avantage d'être transitoires et de permettre ainsi d'examiner de façon séparée l'implication d'une structure dans les différentes phases d'une tâche comportementale. Il existe différentes techniques d'inactivations réversibles ou d'agents inactivants (pour revue, voir Lomber, 1999 ; Malpeli, 1999). Notre choix s'est porté sur l'utilisation de la technique d'inactivation par la tétrodotoxine (TTX), au vu de l'efficacité avérée de cette technique et ce notamment pour inactiver de façon transitoire le cortex entorhinal (Baldi et coll., 1998 ; Baldi et coll., 1999 ; Baldi et coll., 2000). La TTX est un inhibiteur des canaux sodium voltage-dépendants et par conséquent interrompt la conduction des potentiels d'action, mais aussi la transmission synaptique dans la zone injectée. La quantité de TTX utilisée dans cette expérience (5 ng dans 0,5 µl) correspond à celle utilisée dans les travaux de Baldi et collaborateurs et a été décrite comme produisant une inactivation fonctionnelle dans une zone de 1,5 mm de diamètre ; cette inactivation est complète dans les 30 minutes et la récupération totale dans les 24 heures.

Matériel et méthodes

Animaux

Quatre vingt rats sont utilisés dans cette expérience dont le matériel et le protocole sont identiques à ceux de l'expérience 5, à l'exception que seuls deux groupes de rats (NPE et PE20) sont constitués pour chaque condition d'inactivation (n=10 par groupe). Par ailleurs, le programme pour la phase de test est celui de l'expérience 4 (rapport de suppression R25).

Chirurgie

L'opération a lieu une semaine après l'arrivée des animaux au laboratoire. Les animaux sont anesthésiés par une injection intrapéritonéale de pentobarbital sodique (75 mg/kg) puis reçoivent une injection intramusculaire d'antibiotique (0,3 ml d'Extencilline 2,4 M.U.I.). Le scalp du rat est épilé puis l'animal est fixé dans un cadre stéréotaxique (Stoelting). Le rat est placé dans une couverture isotherme afin de limiter l'hypothermie. Après une injection sous cutanée d'un anesthésique local (0,1 ml de Xylocaïne) au niveau du scalp, celui ci est nettoyé (Sterlane) puis incisé. Les couches protectrices du crâne sont écartées ; ce dernier étant mis à nu, sa surface est nettoyée (NaCl 0,9%) afin de visualiser l'ensemble des repères anatomiques. La barre d'incisive est ajustée de sorte que le Bregma soit situé au même niveau que le Lambda (position dite "*flat skull*").

Trois vis de maintien sont placées dans le crâne, puis une canule guide (diamètre externe de 0,4 mm et longueur de 12 mm) est implantée dans le cortex entorhinal de chaque hémisphère aux coordonnées : A-P : -7,6 mm ; M-L : ±5 mm ; D-V : -5,9 mm par rapport au Bregma. Du ciment dentaire (PalaDur) est coulé à la surface du crâne afin de maintenir les canules guides, puis un mandrin est placé à l'intérieur des canules afin d'éviter qu'elles ne s'obstruent. Une fois l'opération terminée, la jonction entre le scalp et le plot de ciment dentaire est saupoudrée de sulfamides (Exoseptoplix). Le rat est ensuite placé dans une cage de réveil maintenue sous une lampe. Les animaux sont ensuite replacés par deux dans leur cage d'habitation où ils ont accès à volonté à la nourriture et à la boisson, et ce pour une période de récupération postopératoire de 10 à 15 jours.

Protocole

A l'issue du cinquième jour d'entraînement, les animaux sont soumis à une microinjection de liquide céphalo-rachidien (LCR ; 0,9%) de 0,2 µl par site, ceci afin de familiariser les animaux avec le protocole. La microinjection est réalisée chez l'animal vigile, tenu en main. Les mandrins sont retirés des canules guides et remplacés par des canules d'injection (diamètre externe de 0,28 mm) dépassant de la canule guide de 1 mm lorsqu'elles sont mises en place. Le LCR est injecté via ces canules métalliques qui sont reliées, par l'intermédiaire d'un cathéter (diamètre externe de 0,3 mm), à une seringue de 10 µl (Exmire). Un pousse-seringue automatique (CMA modèle 100) permet le réglage du volume et de la vitesse

d'injection (0,5 µl/min). La canule est laissée en place une minute supplémentaire afin de réduire le reflux de la solution injectée.

L'inactivation réversible du cortex entorhinal est induite par l'administration de 5 ng de TTX dissoute dans 0,5 µl de LCR, les animaux témoins ne recevant que le LCR. Les microinjections sont réalisées 60 minutes avant les phases de préexposition et de conditionnement. Huit groupes d'animaux sont ainsi constitués (n=10 par groupe), les animaux préexposés (PE20) et non préexposés (NPE) étant répartis suivant le traitement reçu lors de la phase de préexposition (TTX ou LCR) et lors de la phase de conditionnement (TTX ou LCR) : NPE-LCR-LCR, NPE-LCR-TTX, NPE-TTX-LCR, NPE-TTX-TTX, PE20-LCR-LCR, PE20-LCR-TTX, PE20-TTX-LCR, PE20-TTX-TTX (condition de préexposition - traitement lors de la phase de préexposition - traitement lors de la phase de conditionnent).

Histologie

A l'issue des tests comportementaux, les animaux sont euthanasiés par une administration intrapéritonéale d'une dose létale de pentobarbital (120 mg/kg). Ils sont ensuite soumis à une microinjection d'encre de chine (0,5 µl/site) afin de faciliter la localisation de l'emplacement des canules sur coupes histologiques colorées au violet de Crésyl selon la méthode décrite dans l'expérience 3.

Analyse des données

Pour la phase de préexposition, l'évolution au cours de la séance de l'activité globale des animaux fait l'objet d'une analyse de la variance (ANOVA) à trois facteurs (facteur Préexposition à 2 niveaux [NPE ; PE20], facteur Traitement PE à 2 niveaux [LCR ; TTX] et facteur Bloc à 20 niveaux [chaque niveau correspondant à un bloc d'une minute]). De plus, l'activité des animaux des groupes préexposés avant, pendant et après chaque présentation du son fait l'objet d'une ANOVA à trois facteurs (facteur Période à 3 niveaux [Avant ; Pendant ; Après], facteur Traitement PE à 2 niveaux [LCR ; TTX] et facteur Evénement à 20 niveaux [groupe PE20]). Cette dernière analyse a également été effectuée, à titre de contrôle, dans le groupe NPE (sur une base de 20 événements).

La mesure de *freezing* effectuée lors du conditionnement n'est pas présentée, au vu du manque de pertinence de cette mesure à l'intensité de choc utilisée (cf. expérience 4).

Pour la phase de réentraînement, les variables LAP et LAT_{10} font l'objet d'une analyse de variance (ANOVA) à quatre facteurs (facteur Préexposition à 2 niveaux [NPE ; PE20], facteur Traitement PE à 2 niveaux [LCR ; TTX], facteur Traitement CD à deux niveaux [NPE ; PE20] et facteur Séance à 2 niveaux).

Pour la phase de test, la variable R_{25} (le rapport R_{10} n'ayant pu être calculé), ainsi que les variables LAT_{10} et $Pré_{25}$, font l'objet d'une analyse de variance (ANOVA) à trois facteurs (facteur Préexposition à 2 niveaux [NPE ; PE20], facteur Traitement PE à 2 niveaux [LCR ; TTX] et facteur Traitement CD à deux niveaux [NPE ; PE20]).

Les différences entre les groupes sont établies par des comparaisons *post-hoc* avec le test de Newman-Keuls.

Résultats

Vérifications histologiques

L'analyse histologique a permis de retenir 48 rats présentant une implantation bilatérale dans le cortex entorhinal. La figure 12.1 présente une illustration photographique montrant la localisation du site d'injection d'un animal. Les rats écartés présentaient une implantation trop dorsale (subiculum), trop ventrale (diffusion en dehors du cerveau), ou unilatérale (l'un des côtés étant soit trop dorsal soit trop ventral). Par ailleurs, certaines injections n'ont pu avoir lieu en raison de canules guides bouchées. Dans ce cas, les animaux ont été également écartés de l'analyse statistique. Les effectifs finaux de chacun des groupes sont les suivants : NPE-LCR-LCR (n=7), NPE-LCR-TTX (n=5), NPE-TTX-LCR (n=6), NPE-TTX-TTX (n=5), PE20-LCR-LCR (n=8), PE20-LCR-TTX (n=6), PE20-TTX-LCR (n=6) et PE20-TTX-TTX (n=5).

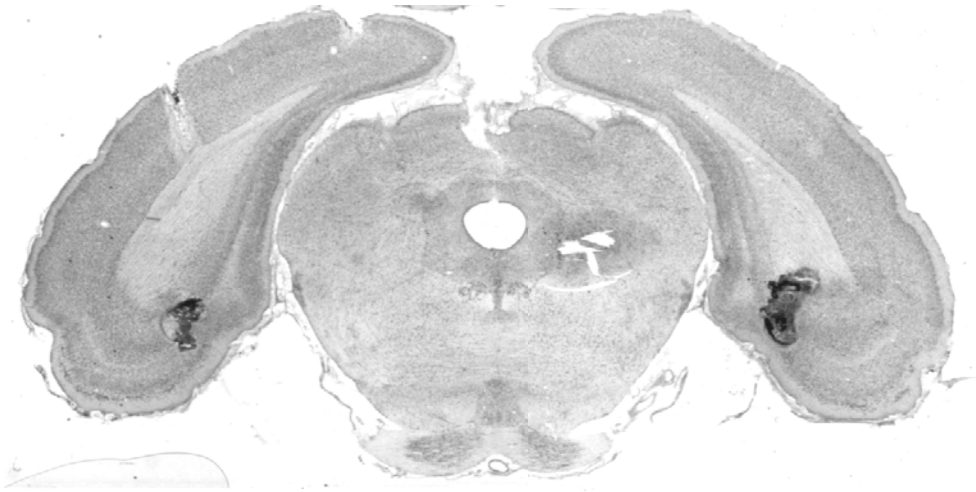


Figure 12.1 : Photographie d'une coupe frontale de cerveau de rat, colorée au violet de Crésyl, au niveau du cortex entorhinal montrant la localisation du site d'injection d'un animal.

Préexposition

L'évolution de l'activité globale des animaux des différents groupes est présentée à la figure 12.2. Cette activité décroît progressivement au cours de la séance et de manière comparable dans l'ensemble des groupes bien que cette décroissance semble plus marquée dans le groupe PE20, tout au moins pendant la deuxième moitié de la séance. L'ANOVA confirme la description de ces données puisqu'elle révèle un effet significatif du facteur Bloc ($F(19,836)=35,65$, $p<0,0001$), mais pas des facteurs Préexposition ($F(1,44)=2,11$, ns) et Traitement PE ($F(1,44)=2,49$, ns), ni d'aucune des interactions, excepté celle entre les facteurs Préexposition et Bloc ($F(19,836)=2,43$, $p<0,001$). L'analyse *post-hoc* sur cette dernière interaction montre pour les animaux NPE, toutes les minutes à partir de la minute 8 différent de la minute 1 ($p<0,01$ au moins), alors que pour les animaux PE20, toutes les minutes à partir de la minute 5 différent de la minute 1 ($p<0,05$ au moins), suggérant que la diminution d'activité est plus marquée dans ce dernier groupe. Néanmoins, les effets simples de l'interaction entre les facteurs Préexposition et Bloc analysés séparément pour chacune des conditions de traitement, ainsi que les effets simples de l'interaction entre les facteurs Traitement PE et Bloc analysés séparément pour chacune des conditions de préexposition, n'ont révélé aucune différence entre les groupes.

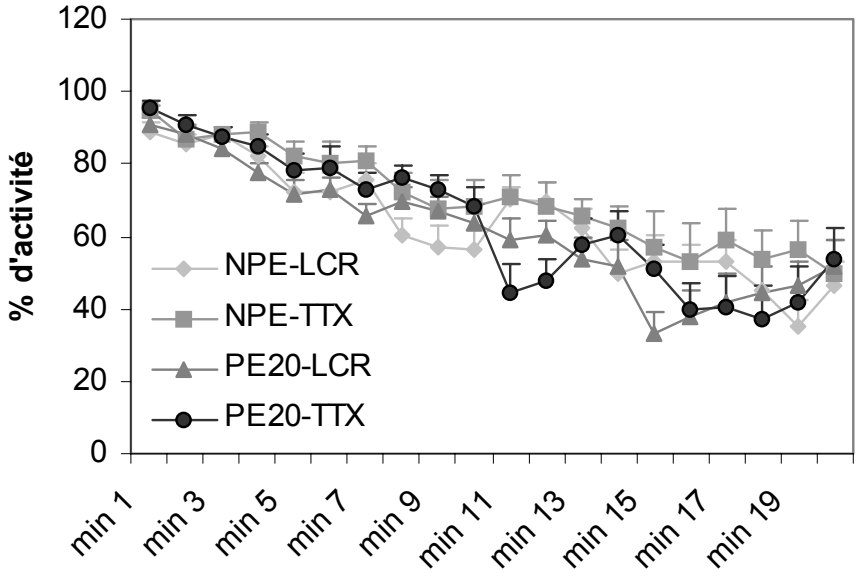


Figure 12.2 : Evolution de l'activité des animaux au cours de la phase de préexposition. Moyenne (± erreur type) du pourcentage d'activité par minute.

L'activité des animaux ne semble pas être modifiée pendant la présentation du son (figure 12.3). L'ANOVA révèle un effet significatif des facteurs Evénement ($F(19,437)=14,48$, $p<0,0001$), Période ($F(2,46)=4,01$, $p<0,05$), mais pas du facteur Traitement PE ($F(1,23)=0,32$, ns), ni d'aucune des interactions entre ces facteurs, à l'exception de l'interaction entre les facteurs Evénement et Traitement PE ($F(19,437)=2,09$, $p<0,01$). Pour le groupe NPE, l'ANOVA révèle un effet des facteurs Evénement ($F(19,399)=9,32$, $p<0,0001$), Période ($F(2,42)=3,82$, $p<0,05$), mais pas du facteur Traitement PE ($F(1,21)=2,19$, ns), ni d'aucune des interactions entre ces facteurs. Les analyses *post-hoc* sur le facteur Période indiquent que, pour le groupe NPE, la période Après diffère de la période Avant ($p<0,05$) et que pour le groupe PE20, la période Pendant diffère de la période Après ($p<0,05$). Les résultats des analyses *post-hoc* sur l'interaction entre le facteur Période et le facteur Lésion n'ont révélé aucune différence.

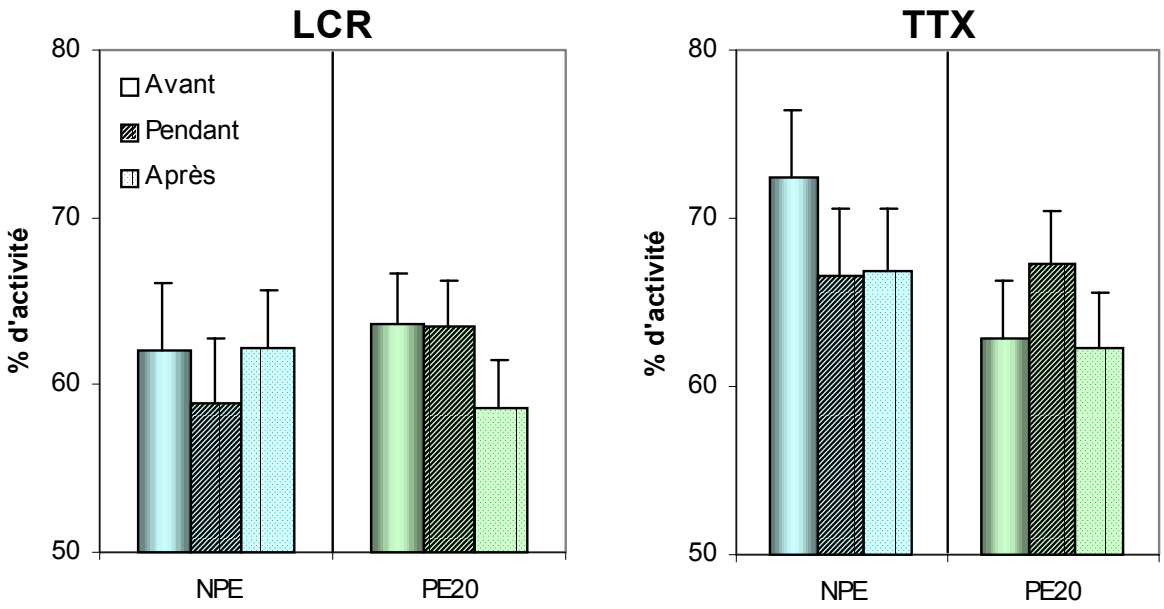


Figure 12.3 : Activité des animaux avant, pendant et après le son (période de 10 secondes) sur l'ensemble des événements (données de l'interaction entre les facteurs Période et Lésion). Moyenne (± erreur type) du pourcentage d'activité par période. *L'activité des animaux n'est pas modifiée de façon significative par la présentation du son.*

Réentraînement

Au cours de cette phase, les animaux des différents groupes ne semblent pas différer entre eux et ne semblent pas présenter de réaction de peur au contexte, à l'exception du groupe PE20-LCR-TTX qui présente une latence LAT_{10} supérieure à J8. L'ANOVA révèle un effet du facteur Séance pour la variable LAT_{10} ($F(1,40)=11,49$, $p<0,01$ et $F(1,40)=0,21$, ns pour les variables LAT_{10} et LAP, respectivement), mais pas des facteurs Préexposition ($F(1,40)=0,26$, ns et $F(1,40)=0,94$, ns pour les variables LAT_{10} et LAP, respectivement) Traitement PE ($F(1,40)=0,18$, ns et $F(1,40)=0,14$, ns pour les variables LAT_{10} et LAP, respectivement), Traitement CD ($F(1,40)=3,92$, ns et $F(1,40)=1,73$, ns pour les variables LAT_{10} et LAP, respectivement), ni d'aucune des interactions entre ces facteurs. L'analyse *post-hoc* de comparaisons multiples entre groupes indique que le groupe PE20-LCR-TTX (J8) présente une latence différente de celle des groupes NPE-LCR-TTX (J8), NPE-TTX-TTX (J8) et PE20-LCR-TTX (J9 ; $p<0,05$ au moins).

Test

Le jour du test, les latences (LAT_{10}) des différents groupes ne diffèrent pas comme le confirme l'ANOVA qui ne révèle pas d'effet significatif des facteurs Préexposition ($F(1,40)=0,11$, ns), Traitement PE ($F(1,40)=0,30$, ns), Traitement CD ($F(1,40)=0,79$, ns), ni d'aucune des interactions entre ces facteurs, à l'exception de celle entre le facteur Préexposition et Traitement CD ($F(1,40)=4,47$, $p<0,05$). L'analyse *post-hoc* sur cette interaction n'a cependant révélé aucune différence entre les groupes.

Durant la période pré-son, les latences $Pré_{25}$ des différents groupes ne diffèrent pas comme le confirme l'ANOVA qui ne révèle pas d'effet significatif du facteur Préexposition ($F(1,40)=0,06$, ns), Traitement PE ($F(1,40)=0,07$, ns), Traitement CD ($F(1,40)=0,12$, ns), ni d'aucune des interactions entre ces facteurs. Cette absence de différence entre les différents groupes nous autorise à utiliser le rapport de suppression comme variable dépendante pour mesurer la réponse conditionnée.

Les résultats (rapport de suppression, R_{25}) obtenus pour les différents groupes sont présentés à la figure 12.4. Les groupes NPE présentent des rapports proches de 0,2 (0,29 ± 0,06 ; 0,25 ± 0,02 ; 0,17 ± 0,06 et 0,16 ± 0,05 pour les groupes LCR-LCR, LCR-TTX, TTX-LCR et TTX-TTX, respectivement) indiquant une réponse émotionnelle conditionnée moyenne. Les groupes PE20, à l'exception du groupe TTX-LCR, présentent des rapports proches de 0,5, indiquant une absence de réponse émotionnelle conditionnée. Le groupe PE20-TTX-LCR présente un rapport similaire au groupe NPE-TTX-LCR et donc une réponse émotionnelle conditionnée. Cette description est confirmée par l'ANOVA qui révèle un effet significatif des facteurs Préexposition ($F(1,40)=26,16$, $p<0,0001$), Traitement PE ($F(1,40)=17,61$, $p<0,001$), mais pas du facteur Traitement CD ($F(1,40)=1,35$, ns). L'interaction entre les facteurs Traitement PE et Traitement CD est significative ($F(1,40)=6,55$, $p<0,05$), celle entre les facteurs Préexposition et Traitement CD est proche d'être significative ($F(1,40)=3,93$, $p=0,05$), mais celle entre les facteurs Préexposition et Traitement PE ne l'est pas ($F(1,40)=0,86$, ns). Enfin, l'interaction entre les trois facteurs est significative ($F(1,40)=4,11$, $p<0,05$). L'analyse *post-hoc* sur cette dernière interaction montre que les groupes PE20-LCR-LCR, PE20-LCR-TTX et PE20-TTX-TTX différent des groupes NPE-LCR-LCR, NPE-LCR-TTX et NPE-TTX-TTX, respectivement ($p<0,05$ au moins). De

plus le groupe PE20-TTX-LCR diffère des groupes PE20-LCR-LCR, PE20-LCR-TTX et PE20-TTX-TTX ($p<0,01$ au moins).

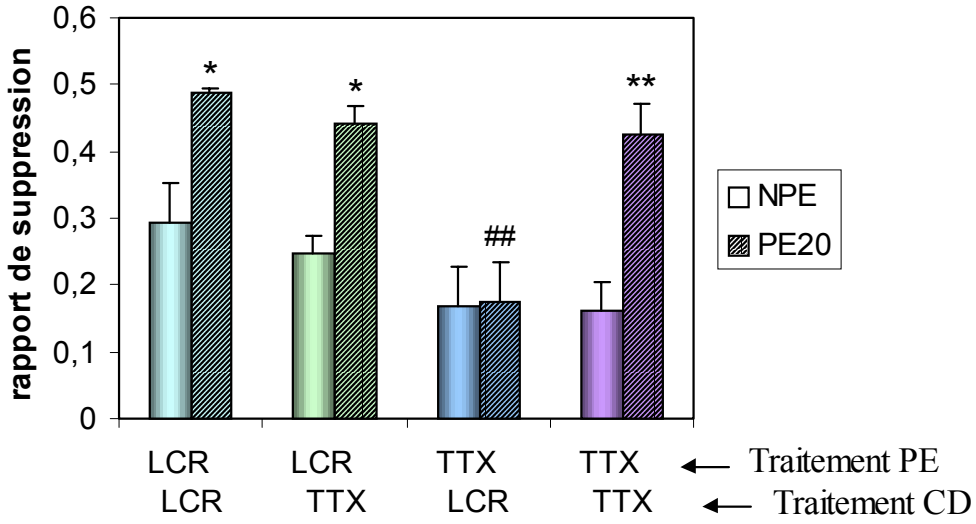


Figure 12.4 : Effet de l'inactivation du cortex entorhinal sur l'inhibition latente. Moyenne (± erreur type) du rapport de suppression R_{25}. * : $p<0,05$ et ** : $p<0,01$ par rapport au groupe NPE de la même condition de traitement. ## : $p<0,01$ par rapport au groupe PE20-LCR-LCR. *L'inactivation du cortex entorhinal lors de la phase de préexposition seule, mais pas lors de la phase de conditionnement ou lors des deux phases, supprime l'inhibition latente induite par 20 préexpositions.*

Discussion

Les résultats de cette expérience montrent que l'inactivation du cortex entorhinal lors de la phase de préexposition supprime l'inhibition latente, mais que ce phénomène n'est pas affecté lorsque le cortex entorhinal est inactivé pendant la phase de conditionnement ou pendant les deux phases.

Une implication du cortex entorhinal au cours de la phase de préexposition semble être en adéquation avec plusieurs modèles de l'inhibition latente. Ainsi, Gluck et Myers (Gluck et Myers, 2001) proposent dans leur modèle, que le cortex entorhinal serait responsable (lors de la phase de préexposition) de la compression de la représentation du SC avec celle du contexte. De même, le cortex entorhinal a récemment été intégré au modèle SLG (Schmajuk et coll., 2001). Ce dernier stipule que le cortex entorhinal calculerait la prédiction totale du SI en ajoutant les différentes composantes de la prédiction, à savoir la prédiction du SI par le contexte et la prédiction du SI par le SC. Il calculerait également les prédictions totales du SC

(prédictions du SC par le SC et par le contexte) et du contexte (prédictions du contexte par le contexte et par le SC). L'activité du cortex entorhinal serait proportionnelle à la prédiction totale du SI, à la prédiction du SC par le contexte et à la prédiction du contexte par le SC. Dès lors, selon ce modèle le cortex entorhinal est activé lors de la préexposition (lorsque la prédiction du SC par le contexte est augmentée). Enfin, même si le modèle du *switching* (Weiner, 2003) ne se prononce pas quant aux processus neuronaux se produisant lors de la préexposition, il pose comme postulat l'implication du cortex entorhinal (probablement avec son innervation sérotoninergique) qui encoderait la contingence stimulus - pas d'événement. La suppression d'inhibition latente suite à l'inactivation du cortex entorhinal lors de la phase de préexposition confirme ces différentes propositions, mais ne nous renseigne pas sur le mécanisme altéré. Il est d'ailleurs intéressant de noter que non seulement ce déficit ne s'accompagne pas d'une facilitation du conditionnement (cf. expérience 8), mais que ce déficit est obtenu malgré un faible niveau de conditionnement (cf. expérience 3), suggérant que le déficit observé dans cette expérience résulte d'un mécanisme différent de celui impliqué dans le déficit observé suite à la lésion du cortex entorhinal (cf. expérience 5).

Quel que soit le processus affecté par la TTX lors de la préexposition, il est important de signaler que les effets de la préexposition ne sont que diminués et non supprimés comme en atteste la présence d'inhibition latente dans le groupe préexposé ayant reçu de la TTX au cours des deux phases. Ce résultat ne peut s'expliquer par un phénomène de dépendance d'état, puisque dans ce cas, un déficit d'inhibition latente aurait également été observé dans le groupe LCR-TTX. Par contre, il se peut que l'infusion de TTX dans le cortex entorhinal produise un changement de contexte interne. L'inhibition latente étant sensible à un changement de contexte entre la phase de préexposition et la phase de conditionnement (cf. introduction générale), ce changement de contexte interne dans le groupe TTX-LCR pourrait entraîner un déficit d'inhibition latente. L'absence de déficit observé dans le groupe LCR-TTX qui présente également un changement de contexte entre les deux phases s'explique, quant à lui, par le fait qu'un tel changement entre la phase de préexposition et celle de conditionnement peut être compensé si les animaux sont testés dans le contexte utilisé pour la phase de préexposition (dans notre cas, l'absence de drogue lors du test peut représenter un contexte similaire à l'infusion de solvant).

Une explication alternative à ce résultat serait que l'infusion de TTX lors du conditionnement annulerait son effet déficitaire lors de la préexposition. Autrement formulé,

l'inactivation du cortex entorhinal lors de la phase de conditionnement produirait une facilitation d'inhibition latente qui viendrait masquer/compenser le déficit induit par l'inactivation lors de la phase de préexposition. Un tel phénomène a déjà été observé suite à l'administration systémique d'un composé antipsychotique, la clozapine (Shadach et coll., 2000). Bien que nous n'ayons pas pu mettre en évidence dans nos conditions expérimentales (effet "plafond") de facilitation de l'inhibition latente consécutivement à l'inactivation du cortex entorhinal lors du conditionnement, quelques éléments permettent cependant d'appuyer une telle proposition. En effet, l'infusion de TTX dans le cortex entorhinal diminue la transmission dopaminergique dans la partie *shell* du noyau accumbens (Louilot et Le Moal, 1994) et, selon le modèle du *switching* (Weiner, 2003), une diminution de dopamine dans la partie *shell* du noyau accumbens (signalant la contingence SC-rien) préviendrait le basculement et de ce fait potentialiserait l'inhibition latente. L'infusion de TTX dans le cortex entorhinal lors de la phase de conditionnement pourrait donc produire une facilitation d'inhibition latente via une diminution de l'activité dopaminergique au sein de la partie *shell* du noyau accumbens.

En résumé, les résultats de cette expérience montrent que l'inactivation du cortex entorhinal lors de la phase de préexposition, mais pas lors de la phase de conditionnement, supprime l'inhibition latente, suggérant que le cortex entorhinal serait impliqué dans l'inhibition latente, lors de la phase de préexposition. Le résultat obtenu dans le groupe inactivé lors des deux phases revêt une importance toute particulière puisqu'il suggère que

- ***l'inactivation du cortex entorhinal lors de la phase de conditionnement pourrait faciliter l'inhibition latente, suggérant que le cortex entorhinal serait également impliqué lors de cette phase,***
- ***ou que le déficit d'inhibition latente observé dans cette expérience résulterait d'un changement de contexte induit par l'infusion de TTX dans le cortex entorhinal.***

Nos résultats ne nous permettent cependant pas de trancher entre ces deux hypothèses.

DISCUSSION

Les expériences décrites dans ce chapitre visaient à identifier le mécanisme impliqué dans le déficit d'inhibition latente induit par la lésion du cortex entorhinal. Nous avons ainsi pu montrer que la lésion du cortex entorhinal facilite la réponse émotionnelle conditionnée en produisant une réponse conditionnée avec une intensité de choc inférieure à celle nécessaire chez des animaux non lésés (0,3 mA au lieu de 0,4 mA ; expérience 8). Or, une augmentation de l'intensité du choc de seulement 0,1 mA est suffisante pour entraîner un déficit d'inhibition latente (cf. expériences 2 et 4 du chapitre précédent). Sur cette base, nous proposons que le déficit d'inhibition latente induit par la lésion du cortex entorhinal pourrait résulter de la facilitation de conditionnement induite par cette même lésion. La généralisation de cet effet a d'autres situations que la REC reste à être démontrée.

Sur la base de cette proposition, nous avons voulu vérifier l'idée selon laquelle une lésion du cortex entorhinal lors de la phase de conditionnement seule devrait permettre de supprimer l'inhibition latente. Pour ce faire, nous avons eu recours à une technique d'inactivation réversible (par l'infusion de TTX) permettant d'agir de façon sélective sur chacune des phases critiques de l'expérience, à savoir lors de la préexposition, lors du conditionnement ou lors des deux. Dans cette expérience (expérience 12), nous avons pu montrer que 1) l'intégrité fonctionnelle du cortex entorhinal était requise lors de la phase de préexposition et non lors de la phase de conditionnement, 2) que ce déficit était obtenu malgré un faible niveau de conditionnement et 3) qu'en plus le déficit d'inhibition latente obtenu ne s'accompagnait pas d'une facilitation de conditionnement. Pour rendre compte de ces différents points, nous proposons qu'un mécanisme, autre que celui proposé précédemment pour rendre compte du déficit d'inhibition latente induit par la lésion du cortex entorhinal, sous tendrait le déficit obtenu consécutivement à l'inactivation du cortex entorhinal lors de la phase de préexposition. Nous émettons également l'hypothèse selon laquelle cette différence résulterait de la plasticité compensatoire (réorganisation anatomo-fonctionnelle) qui accompagne des lésions permanentes mais pas des inactivations transitoires. Dès lors, il peut être proposé que le déficit d'inhibition latente induit par la lésion du cortex entorhinal pourrait résulter de deux mécanismes distincts : l'un impliquant une facilitation du conditionnement induite par les modifications secondaires à la lésion, et l'autre impliquant la perte de l'intégrité fonctionnelle du cortex entorhinal lors de la phase de préexposition.

Nos résultats ne nous renseignement pas quant aux mécanismes impliqués dans la facilitation de conditionnement observée. Néanmoins, au vu de l'influence de l'intensité du choc dans la mise en évidence de cet effet, une facilitation du traitement du SI a été envisagée. Confirmant une étude préliminaire (Ueki et coll., 1994), nous n'avons pas pu mettre en évidence de différence du seuil de sensibilité au chocs électriques chez les animaux lésés (expérience 9). L'absence d'effet constatée dans cette expérience ne nous permet cependant pas d'écarter définitivement la possibilité d'une modification du traitement du SI ou de l'intensité du choc perçue. Il serait en effet intéressant d'effectuer d'autres mesures, comme par exemple celle de la libération de noradrénaline dans l'amygdale qui est proportionnelle à l'intensité du choc électrique (Quirarte et coll., 1998). Nous avons également cherché à mettre en relation les effets sur la réponse émotionnelle conditionnée avec le niveau d'anxiété des animaux. En effet, dans la mesure où des agonistes aux récepteurs des benzodiazepines (composés anxiolytiques) peuvent avoir des effets délétères dans la situation de réponse émotionnelle conditionnée (Stanhope et Dourish, 1996), il était vraisemblable d'envisager qu'une facilitation de réponse émotionnelle conditionnée puisse résulter d'un effet anxiogène. Nos résultats (expérience 10) ne semblent pas soutenir une telle proposition, puisque la lésion du cortex entorhinal ne produit pas d'augmentation de l'anxiété, mais au contraire diminue le niveau d'anxiété. Il a déjà été montré que selon le type de modèle pour mesurer l'anxiété, on pouvait obtenir des effets opposés pour un même composé. Par exemple, Treit et collaborateurs (Treit et coll., 1993) ont signalé qu'un agoniste des récepteurs 5-HT_{1a}, la 8-OH-DPAT, présentait un effet anxiogène dans le test du labyrinthe en croix surélevé, et un effet anxiolytique dans un autre test impliquant des chocs électriques. Par ailleurs, les effets que nous obtenons avec une lésion du cortex entorhinal ont déjà été signalés avec des lésions du cortex préfrontal médian, ces lésions produisant une facilitation de conditionnement (Morgan et coll., 1993 ; Morgan et LeDoux, 1995, mais Lacroix et coll., 2000b) et un effet anxiolytique dans un labyrinthe en croix surélevé (Lacroix et coll., 2000b ; Shah et Treit, 2003, mais Jinks et McGregor, 1997). Le cortex préfrontal exerçant un rétrocontrôle inhibiteur sur l'axe HPA (Herman et Cullinan, 1997), une lésion de ce dernier peut entraîner une augmentation de la libération de corticostérone induite par un stress (Diorio et coll., 1993). Or, il est intéressant de noter qu'une augmentation du niveau de corticostérone induite par l'injection de corticostérone ou par un agoniste permet de diminuer l'anxiété dans un labyrinthe en croix surélevé (Andreatini et Leite, 1994) ou d'augmenter le conditionnement (Zorawski et Killcross, 2002). Sur cette base, nous avons cherché à évaluer les effets de la lésion du cortex

entorhinal sur la libération de corticostérone induite par un stress (expérience 11). Aucune différence n'a pu être observée entre les animaux lésés et leurs témoins, suggérant que les effets préalablement observés ne résulteraient pas d'une altération au niveau de la réponse à un stress de l'axe HPA. Il est cependant important de faire remarquer que le niveau basal de corticostérone plasmatique des animaux lésés est inférieur (bien que cette différence ne soit pas confirmée d'un point de vue statistique) à celui des animaux pseudo-opérés, suggérant que le cortex entorhinal puisse intervenir dans le contrôle tonique de l'axe HPA. Ce résultat nécessitera d'être approfondit au vu des effets délétères de la corticostérone sur l'inhibition latente (Shalev et coll., 1998).

N'ayant pas pu établir clairement de lien entre les différents effets (ou absence d'effet) observés après la lésion, et la facilitation de conditionnement qu'elle produit, la question du mécanisme impliqué dans cette facilitation reste ouverte. Néanmoins, quelques éléments méritent d'être soulignés. Ainsi, dans une situation d'aversion olfactive conditionnée, Ferry et collaborateurs (Ferry et coll., 1999) ont montré que la facilitation de conditionnement induite par la lésion du cortex entorhinal pouvait être compensée par une infusion de muscimol (agoniste des récepteurs $GABA_A$) dans l'amygdale basolatérale. De même, il a été montré que la facilitation de mémoire (consolidation dans une situation d'évitement inhibiteur) induite par l'infusion d'un analogue de l'AMPc dans le cortex entorhinal pouvait être bloquée par une lésion de l'amygdale basolatérale (Roesler et coll., 2002). Il semble alors vraisemblable d'envisager que les effets observés suite à la lésion du cortex entorhinal puissent résulter soit 1) de modifications au sein de l'amygdale basolatérale soit 2) d'une interaction altérée entre le cortex entorhinal et l'amygdale basolatérale et ce au sein d'une troisième structure comme par exemple le noyau accumbens (Setlow et coll., 2000). Des expériences de microdialyse ont permis de montrer que l'application de chocs électriques aux pattes entraîne une augmentation de la concentration extracellulaire de dopamine dans l'amygdale basolatérale (Young et Rees, 1998) et qu'une lésion du cortex entorhinal augmentait cette libération (Uehara et coll., 2003). Cette transmission dopaminergique au sein de l'amygdale basolatérale, en réponse à un stress, aurait des effets opposés sur la libération de dopamine induite par un stress dans le cortex préfrontal médian et dans le noyau accumbens, diminuant et facilitant la réponse, respectivement (Stevenson et coll., 2003). Ces mêmes auteurs ont également montré que la modulation, par l'amygdale basolatérale, de la libération de dopamine dans le noyau accumbens se faisait indirectement via un mécanisme sensible à la dopamine dans le cortex

préfrontal médian (Stevenson et Gratton, 2003). Une libération de dopamine dans le noyau accumbens suite à la présentation de chocs électriques a également été décrite (Young et coll., 1998), celle ci n'étant pas uniquement une réponse inconditionnée au choc, mais bien le résultat d'un apprentissage de peur (Wilkinson et coll., 1998). En effet, la présentation conjointe d'un choc et d'un SC (son ou lumière) augmente la concentration extracellulaire de dopamine dans le noyau accumbens (Saulskaya et Marsden, 1995 ; Young et coll., 1993 ; Young et coll., 1998, mais Levita et coll., 2002), et cette augmentation est supérieure à celle produite par le choc seul (Young et coll., 1993). De plus, la présentation ultérieure du SC produit une libération conditionnée de dopamine (Pezze et coll., 2001 ; Young et coll., 1993 ; Young et coll., 1998), tout comme la présentation du contexte dans lequel cette association a eu lieu (Saulskaya et Marsden, 1995). Il n'existe pas à l'heure actuelle de donnée directe concernant les effets de la lésion du cortex entorhinal sur la libération de dopamine (induite dans une situation similaire) dans le noyau accumbens. Néanmoins, plusieurs études semblent indiquer que le cortex entorhinal et le système dopaminergique méso-accumbens sont fonctionnellement associés (Louilot et Le Moal, 1994 ; Louilot et Choulli, 1997 ; Uehara et coll., 2000, mais Coutureau et coll., 2002). Par ailleurs, il est important de rappeler que le déficit d'inhibition latente induit par la lésion du cortex entorhinal peut être compensé par des composés antipsychotiques (Coutureau et coll., 2000b ; Yee et coll., 1995a), et ce probablement par le blocage des récepteurs dopaminergiques au niveau du noyau accumbens. Dans cette optique, les effets de la lésion du cortex entorhinal sur le fonctionnement du système dopaminergique méso-accumbens seront évalués dans le chapitre suivant.

CHAPITRE 3 :
EFFET DE LA LESION DU CORTEX ENTORHINAL SUR LE FONCTIONNEMENT DU SYSTEME DOPAMINERGIQUE MESO-ACCUMBENS

INTRODUCTION

Dans leur ensemble, les expériences décrites dans les deux premiers chapitres nous ont amenés à suggérer que le déficit d'inhibition latente induit par la lésion du cortex entorhinal pourrait résulter de la facilitation de conditionnement induite par cette même lésion. Cependant, la question du mécanisme impliqué dans cette facilitation reste ouverte. Sur la base des arguments avancés précédemment (dernier paragraphe de la discussion du chapitre 2), à savoir : 1) l'implication du système dopaminergique méso-accumbens dans la réponse émotionnelle conditionnée, 2) l'existence d'un lien fonctionnel entre le cortex entorhinal et le système dopaminergique méso-accumbens, et 3) le fait que le déficit d'inhibition latente induit par la lésion du cortex entorhinal puisse être compensé par des composés antipsychotiques, nous avons vérifié si la lésion du cortex entorhinal modifiait le fonctionnement du système dopaminergique méso-accumbens (transmission dopaminergique et intégration postsynaptique).

Pour ce faire, dans une première série d'expériences (expériences 13 à 16), nous avons évalué les effets de la lésion du cortex entorhinal sur différents comportements impliquant l'activité dopaminergique au sein du noyau accumbens. Parmi ces comportements (pour revue, voir le numéro spécial de Behavioural Brain Research 137, 2002 ; Ikemoto et Panksepp, 1999 ; Zahm, 2000), notre choix s'est porté sur l'activité locomotrice en réponse à la nouveauté (expérience 13), l'hyperactivité locomotrice induite par la *d*-amphétamine (expérience 14) et la préférence de place induite par la *d*-amphétamine (expérience 15 et 16). Plusieurs arguments viennent soutenir l'hypothèse d'une implication de l'activité dopaminergique au sein du noyau accumbens dans ces différents comportements. Ainsi, l'exposition à un environnement nouveau produit une augmentation de l'activité locomotrice (Bardo et coll., 1990), celle-ci étant concomitante à une libération de dopamine au sein du noyau accumbens (Legault et Wise, 2001 ; Neigh et coll., 2001 ; Rebec et coll., 1997a ; Rebec et coll., 1997b ; Saigusa et coll., 1999). Alors que l'infusion de dopamine ou d'agonistes dopaminergiques dans le noyau accumbens peuvent également augmenter les comportements exploratoires (Swanson et coll., 1997), l'infusion d'antagonistes dopaminergiques (Hooks et Kalivas, 1995) ou des lésions du noyau accumbens à la 6-OHDA (Koob et coll., 1978 ; Wolterink et coll., 1990) bloquent l'augmentation de l'activité locomotrice induite par la nouveauté. De même, l'administration de *d*-amphétamine produit une augmentation de

l'activité locomotrice (pour revue, voir Grilly et Loveland, 2001), celle-ci s'accompagnant d'une libération de dopamine préférentiellement au sein du noyau accumbens (Di Chiara et coll., 1993). Alors que l'infusion de *d*-amphétamine dans le noyau accumbens peut également augmenter l'activité locomotrice (Heidbreder et Feldon, 1998 ; Staton et Solomon, 1984), l'infusion d'antagoniste dopaminergique (Chausmer et Ettenberg, 1999) ou des lésions à la 6-OHDA du noyau accumbens (Kelly et coll., 1975 ; Spyraki et coll., 1982) bloquent l'augmentation de l'activité locomotrice induite par la *d*-amphétamine. Enfin, l'administration de *d*-amphétamine produit une préférence de place (pour revue, voir Tzschentke, 1998), celle-ci étant corrélée avec la quantité de dopamine au sein du noyau accumbens (Sellings et Clarke, 2003 ; Spyraki et coll., 1982). Alors que l'infusion de *d*-amphétamine dans le noyau accumbens peut également induire une préférence de place (Carr et White, 1983 ; Carr et White, 1986 ; Liao et coll., 2000 ; Schildein et coll., 1998), l'infusion d'antagoniste dopaminergique (Hiroi et White, 1991a) ou des lésions du noyau accumbens à la 6-OHDA (Sellings et Clarke, 2003) bloquent l'augmentation de la préférence de place induite par la *d*-amphétamine.

Dans une seconde série d'expériences (expériences 17 et 18), nous avons évalué les effets de la lésion du cortex entorhinal sur la réponse génomique induite par l'administration d'agents pharmacologiques agissant sur le système dopaminergique. Nous avons opté pour des techniques permettant d'évaluer l'induction du gène précoce *c-fos* sur coupes histologiques, afin de pouvoir étudier les modifications de cette réponse éventuellement induite par la lésion du cortex entorhinal dans plusieurs structures vers lesquelles il envoie des projections. Parmi les gènes précoces actuellement décrits (*c-fos*, *c-jun*, *zif268*, … ; pour revue, voir Herdegen et Leah, 1998 ; Herrera et Robertson, 1996 ; Sheng et Greenberg, 1990), le gène *c-fos* (qui code pour la protéine c-Fos) est le plus étudié et le mieux caractérisé. Son expression est régulée par un promoteur constitué de plusieurs éléments dont le CRE (*cAMP Response Element*) qui assure la transcription de *c-fos* en réponse aux stimulations de la cellule par des neurotransmetteurs utilisant le Ca^{2+} ou l'AMPc (*Adénosine MonoPhosphate cyclique*). Faiblement exprimé dans le système nerveux central adulte dans les conditions physiologiques, le gène *c-fos* peut être induit par un grand nombre de stimuli extracellulaires (neurotransmetteurs, hormones, facteurs de croissance, …), en particulier consécutivement à des modifications de la neurotransmission dopaminergique. Ainsi, au niveau striatal, l'expression du gène *c-fos* peut être augmentée par des agonistes indirects tels que

l'amphétamine ou la cocaïne (Turgeon et Roche, 1999 ; Uslaner et coll., 2001) mais également, et paradoxalement, par une diminution du niveau de dopamine provoquée par l'administration de réserpine (Pollack et coll., 1999) ou par une lésion à la 6-OHDA (Schuller et Marshall, 2000 ; Svenningsson et coll., 1999). Ce paradoxe résulte de l'existence de deux classes distinctes de récepteurs à la dopamine : les récepteurs de type D_1 (D_1 et D_5) dont la stimulation active l'adénylate cyclase (enzyme qui converti l'ATP en AMPc) et les récepteurs de type D_2 (D_2, D_3 et D_4) dont la stimulation inhibe l'adénylate cyclase (pour revue, voir Jackson et Westlind-Danielsson, 1994 ; Missale et coll., 1998). Les récepteurs D_1 sont principalement localisés sur les neurones postsynaptiques, alors que les récepteurs D_2 ont une localisation à la fois présynaptique et postsynaptique. Malgré quelques controverses (Aizman et coll., 2000 ; Surmeier et coll., 1996), il apparaît que les récepteurs (postsynaptiques) D_1 et D_2 ne sont pas (ou très peu) exprimés dans les mêmes neurones au niveau striatal (noyaux accumbens et caudé-putamen), les récepteurs D_1 étant exprimés dans les neurones à substance P/dynorphine et les récepteurs D_2 dans les neurones à enképhaline (Curran et Watson, Jr., 1995 ; Le Moine et Bloch, 1996). Ainsi, en agissant sur ses récepteurs D_1, la dopamine active l'adénylate cyclase, l'augmentation du taux d'AMPc conduisant à l'activation de la protéine kinase A qui va phosphoryler le facteur de transcription CREB (*CRE Binding protein*) qui, lié au motif CRE, va induire la transcription du gène *c-fos*. A l'inverse, en agissant sur ses récepteurs D_2, la dopamine va inhiber l'adénylate cyclase et diminuer le taux d'AMPc intracellulaire ; une réduction de la fixation de la dopamine sur ce récepteur permettra donc également d'induire la transcription du gène *c-fos*. Dès lors, l'augmentation de l'expression du gène *c-fos* induite par l'amphétamine (ou la cocaïne) a été attribuée à la stimulation des récepteurs D_1 (Berretta et coll., 1992 ; Steiner et Gerfen, 1998), alors que celle induite consécutivement à une diminution du niveau de dopamine a été attribuée à la levée de l'inhibition exercée par la dopamine *via* les récepteurs D_2 (Pollack et coll., 1999 ; Svenningsson et coll., 1999). De fait, des agonistes des récepteurs D_1 et des antagonistes des récepteurs D_2 induisent une augmentation de l'expression de *c-fos* au niveau striatal (Robertson et Jian, 1995 ; Robertson et coll., 1992). Cependant, l'induction de *c-fos* par un agoniste D_1 ne peut se faire que dans un système sensibilisé suite à une déplétion en dopamine (exception : Le Moine et coll., 1997). Pour cette raison, nous avons opté pour l'utilisation d'antagonistes des récepteurs D_2 dans nos expériences, et plus particulièrement de l'halopéridol, un antipsychotique typique, dont les effets sur l'induction de *c-fos* ont été décrits à de nombreuses reprises. Bien que l'halopéridol agisse sur plusieurs récepteurs, au niveau

striatal, l'augmentation de l'expression de *c-fos* induite par l'halopéridol a été attribuée au blocage des récepteurs D_2 (Dragunow et coll., 1990 ; Miller, 1990 ; Rogue et Vincendon, 1992), ce blocage entraînant la levée de l'inhibition tonique exercée par la dopamine (Robertson et Fibiger, 1992), et permettant ainsi l'action d'autres neurotransmetteurs tels que le glutamate (Hussain et coll., 2001, mais de Souza et Meredith, 1999), l'acétylcholine (Hussain et coll., 2002, mais Guo et coll., 1992), la sérotonine (Tremblay et coll., 1998b) ou l'adénosine (Pinna et coll., 1999, mais Hussain et coll., 2002), induisant une expression de *c-fos* dans les neurones de projection du noyau accumbens (Guo et coll., 1998 ; Hiroi et Graybiel, 1996 ; Ma et coll., 2003 ; Robertson et Jian, 1995). De fait, l'expression de *c-fos* induite par l'halopéridol nécessite en particulier le fonctionnement normal de : 1) la libération tonique de dopamine, 2) des récepteurs D_2, 3) d'autres systèmes de neurotransmission dont notamment le système glutamatergique ; toute "altération" de l'un de ces éléments est susceptible d'affecter l'expression de *c-fos* induite par l'halopéridol.

EXPERIENCE 13 : EFFET DE LA LESION DU CORTEX ENTORHINAL SUR LA FAMILIARISATION A UN ENVIRONNEMENT NOUVEAU ET SUR L'ACTIVITE LOCOMOTRICE SPONTANEE

Introduction

Le but de cette expérience est d'évaluer les effets de la lésion du cortex entorhinal sur l'activité locomotrice induite par la confrontation d'un animal à un environnement nouveau et sur l'activité locomotrice spontanée au cours du nycthémère. L'activité locomotrice induite par un environnement nouveau semble résulter d'un comportement exploratoire, mais également d'un comportement de fuite selon la composante aversive/anxiogène de cet environnement (Exner et Clark, 1993). La plupart des études relatives aux effets de la lésion du cortex entorhinal sur l'activité locomotrice ont utilisé un *open field*, situation présentant une composante anxiogène relativement élevée. N'ayant pas pu mettre en évidence d'effet de la lésion dans un *open field* (expérience 11), nous avons utilisé une autre situation dans cette expérience, situation adaptée de celle utilisée par Galani et collaborateurs (Galani et coll., 2001). Dans cette étude, les auteurs ont montré que l'activité locomotrice peut être augmentée de façon similaire consécutivement à la modification de l'environnement proximal (nouvelle cage d'habitation) ou de l'environnement distal (nouvelle pièce), un changement de ces deux éléments tendant à être additif. Nous avons opté pour ce double changement (nouvelle cage d'habitation et nouvelle pièce) afin d'induire une forte augmentation de l'activité locomotrice.

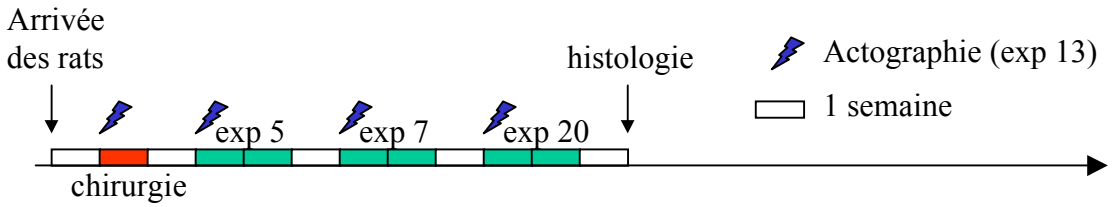
Par ailleurs, afin de dissocier les éventuels effets de la lésion sur l'activité locomotrice en réponse à un environnement nouveau de ses éventuels effets sur l'activité locomotrice spontanée, nous avons poursuivi l'analyse de l'activité locomotrice tout au long du nycthémère, donc également dans un environnement devenu familier.

Ces mesures ont été réalisées à plusieurs reprises (1 semaine avant opération et 1, 4 et 7 semaines après opération) afin de vérifier si les effets de la lésion du cortex entorhinal se maintiennent à différents délais postopératoires.

Matériel et méthodes

Animaux

Les rats sont les mêmes que ceux de l'expérience 5, qui ont également été utilisés pour l'expérience 7 (voir ci-dessous, l'expérience en cours étant figurée en bleu). Cette expérience est conduite en parallèle de ces expériences, les animaux ayant accès à la nourriture et à la boisson *ad libitum*. Les effectifs, à l'issue de la vérification histologique, sont de 30 rats PSEUDO et 24 rats ENTO.



Matériel

Quarante quatre cages identiques aux cages d'élevages sont placées sur des étagères. Chaque cage est traversée par deux faisceaux infrarouges ciblés sur deux cellules photo-électriques situées à 4,5 cm de haut et à 4 cm de chaque extrémité de la cage (séparées de 28 cm). Le nombre d'interruptions successives des deux faisceaux infrarouges, et donc le nombre de passage d'une extrémité à l'autre de la cage, est enregistré par un ordinateur.

Protocole

Dans les quinze minutes qui précèdent le début de l'enregistrement, les animaux sont déplacés de la colonie vers la salle d'expérience (non attenante à cette dernière) et placés individuellement dans une nouvelle cage. L'enregistrement de l'activité locomotrice débute à 9 heures pour une durée de 27 heures, l'observation se divisant en trois périodes : une période d'habituation de 3 heures (9h - 12h), une période diurne de 12 heures (12h - 19h et 7h - 12h le demain) et une période nocturne de 12 heures (19h - 7h). Plusieurs enregistrements sont effectués : le premier 7 jours après l'arrivée des rats (juste avant la chirurgie ; PréOPE), le deuxième 4 jours après la fin de la chirurgie (environ 1 semaine après lésion ; PostOPE 1), le troisième 6 jours après la fin de l'expérience 5 (environ 4 semaines après lésion ; PostOPE 4),

et le quatrième 6 jours après la fin de l'expérience 7 (environ 7 semaines après lésion ; PostOPE 7).

Analyse des données

Pour la phase d'habituation, le nombre de passage (activité locomotrice) fait l'objet d'une analyse de variance (ANOVA) à deux facteurs (facteur Lésion à deux niveaux [PSEUDO ; ENTO] et facteur Heure à 3 niveaux) et ce pour chacun des enregistrements (PréOPE, PostOPE 1, PostOPE 4 et PostOPE 7).

Pour les phases diurne et nocturne, le nombre de passage fait l'objet d'une analyse de la variance (ANOVA) à 2 facteurs (facteur Lésion à deux niveaux [PSEUDO ; ENTO] et facteur Période à 2 niveaux [JOUR ; NUIT]) et ce pour chacun des enregistrements (PréOPE, PostOPE 1, PostOPE 4 et PostOPE 7).

Les différences entre les groupes sont établies par des comparaisons *post-hoc* avec le test de Newman-Keuls.

Résultats

Activité locomotrice avant chirurgie

L'absence de différence initiale dans les niveaux d'activité locomotrice entre les groupes d'animaux qui seront lésés ou pseudo-opérés (données non illustrées) est confirmée par l'ANOVA qui ne révèle pas de différence significative entre les animaux de ces groupes, tant en ce qui concerne la phase d'habituation (facteur Lésion $F(1,52)=0,01$, ns ; facteur Heure ($F(2,104)=75,25$, $p<0,0001$; interaction entre ces deux facteurs ($F(2,104)=0,88$, ns), que les phases diurne et nocturne (facteur Lésion $F(1,52)=0,06$, ns) ; facteur Période ($F(1,52)=258,27$, $p<0,0001$) ; interaction entre ces deux facteurs ($F(1,52)=0,01$, ns).

Activité locomotrice après lésion

La figure 13.1 montre l'évolution temporelle de l'activité locomotrice des deux groupes, PSEUDO et ENTO, pendant la phase d'habituation pour l'enregistrement qui a lieu 1 semaine après lésion (PostOPE 1). Les résultats des enregistrements qui ont lieur 4 et 7 semaines après

lésions (PostOPE 4 et 7) sont présentés dans le tableau 13.1. Dans les deux groupes, et ce pour les différents enregistrements, l'activité locomotrice décroît rapidement entre la 1ère et la 2ème heure, puis de façon moins marquée entre la 2ème et la 3ème heure. Cependant, les animaux ENTO sont plus actifs que les animaux PSEUDO lors de la première heure. Cette description des données est confirmée par l'ANOVA qui révèle un effet des facteurs Heure ($F(2,104)=103,05$, $p<0,0001$; $F(2,104)=163,72$, $p<0,0001$ et $F(2,104)=173,50$, $p<0,0001$ pour les enregistrements PostOPE 1, PostOPE 4 et PostOPE 7, respectivement), Lésion ($F(1,52)=5,70$, $p<0,05$; $F(1,52)=6,43$, $p<0,05$ et $F(1,52)=3,35$, $p=0,07$ pour les enregistrements PostOPE 1, PostOPE 4 et PostOPE 7, respectivement), ainsi que de l'interaction entre ces facteurs ($F(2,104)=4,00$, $p<0,05$; $F(2,104)=6,00$, $p<0,01$ et $F(2,104)=3,24$, $p<0,05$ pour les enregistrements PostOPE 1, PostOPE 4 et PostOPE 7, respectivement). Dans tous les cas, l'analyse *post-hoc* sur l'interaction indique que dans les deux groupes, la 1ère heure diffère significativement de la 2ème et 3ème heure ($p<0,001$ dans tous les cas) et que le groupe ENTO présente une activité significativement différente de celle du groupe PSEUDO lors de la 1ère heure ($p<0,05$ au moins).

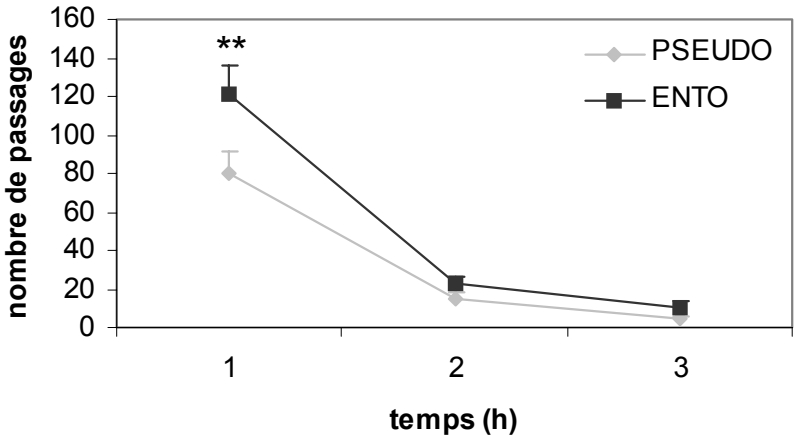


Figure 13.1 : Effet de la lésion du cortex entorhinal sur l'activité locomotrice induite par la nouveauté. Moyenne (± erreur type) du nombre de passage. Enregistrement réalisé une semaine après opération (PostOPE 1). ** : $p<0,01$ par rapport au groupe PSEUDO.

	heure 1	heure 2	heure 3
PSEUDO	117,3 ± 11,6	18,2 ± 4,4	6,2 ± 1,7
ENTO	176,0 ± 21,2 **	37,5 ± 7,2	8,9 ± 4,4

	heure 1	heure 2	heure 3
PSEUDO	133,2 ± 10,0	38,1 ± 5,0	8,8 ± 2,1
ENTO	175,8 ± 21,7 *	53,5 ± 10,0	11,1 ± 2,5

Tableau 13.1 : Effet de la lésion du cortex entorhinal sur l'activité locomotrice induite par la nouveauté. Moyenne (± erreur type) du nombre de passage. Enregistrement réalisé quatre (PostOPE 4 ; à gauche) et sept (PostOPE 7 ; à droite) semaines après lésion. * : $p<0,05$ et ** : $p<0,01$ par rapport au groupe PSEUDO.

La figure 13.2 montre l'activité locomotrice diurne et nocturne des deux groupes, PSEUDO et ENTO, pour l'enregistrement qui a lieu 1 semaine après lésion (PostOPE 1). Les résultats des enregistrements qui ont lieu 4 et 7 semaines après lésions (Post OPE 4 et 7) sont présentés dans le tableau 13.2. Dans les deux groupes, et ce pour les différents enregistrements, l'activité nocturne est plus importante que l'activité diurne. De plus, le groupe ENTO présente une activité nocturne supérieure à celle du groupe PSEUDO. Cette description des données est confirmée par l'ANOVA qui révèle un effet des facteurs Période ($F(1,52)=269,41$, $p<0,0001$; $F(1,52)=204,57$, $p<0,0001$ et $F(1,51)=153,52$, $p<0,0001$ pour les enregistrements PostOPE 1, PostOPE 4 et PostOPE 7, respectivement), Lésion ($F(1,52)=20,92$, $p<0,0001$; $F(1,52)=7,95$, $p<0,01$ et $F(1,51)=10,10$, $p<0,01$ pour les enregistrements PostOPE 1, PostOPE 4 et PostOPE 7, respectivement), ainsi que de l'interaction entre ces deux facteurs, sauf pour l'enregistrement PostOPE 4 ($F(1,52)=20,92$, $p<0,0001$; $F(1,52)=2,51$, ns et $F(1,51)=6,35$, $p<0,05$ pour les enregistrements PostOPE 1, PostOPE 4 et PostOPE 7, respectivement). Dans tous les cas, l'analyse *post-hoc* sur l'interaction indique que dans les deux groupes, l'activité nocturne est significativement différente de l'activité diurne ($p<0,001$ dans tous les cas) et que l'activité nocturne du groupe ENTO est significativement différente de celle du groupe PSEUDO ($p<0,01$ au moins).

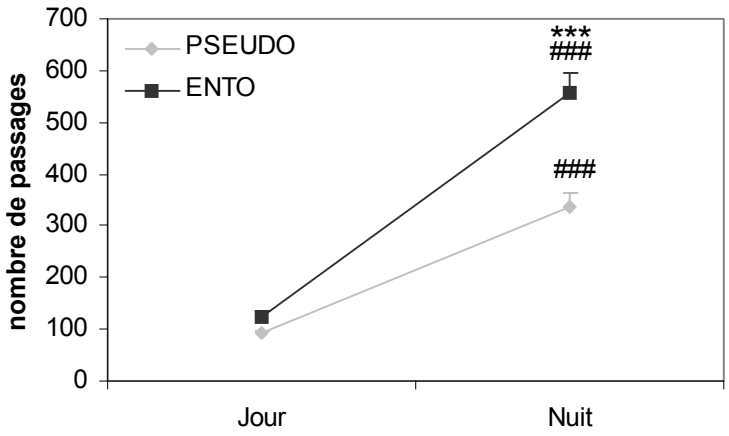


Figure 13.2 : Effet de la lésion du cortex entorhinal sur l'activité locomotrice spontanée. Moyenne (± erreur type) du nombre de passage. Enregistrement réalisé une semaine après opération (PostOPE 1). *** : p<0,001 par rapport au groupe PSEUDO et ### : p<0,001 par rapport l'activité diurne de la même condition chirurgicale.

	diurne	nocturne
PSEUDO	90,1 ± 7,2	295,5 ± 21,4
ENTO	129,1 ± 16,8	385,7 ± 29,8 ***

	diurne	nocturne
PSEUDO	110,3 ± 7,4	237,8 ± 17,2
ENTO	128,6 ± 10,1	321,2 ± 20,1 ***

Tableau 13.2 : Effet de la lésion du cortex entorhinal sur l'activité locomotrice spontanée. Moyenne (± erreur type) du nombre de passage. Enregistrement réalisé quatre (PostOPE 4 ; à gauche) et sept (PostOPE 7 ; à droite) semaines après lésion. ** : p<0,01 par rapport au groupe PSEUDO.

Discussion

Les résultats de cette expérience montrent que la lésion du cortex entorhinal augmente l'activité locomotrice induite par un environnement nouveau, et ce quel que soit le délai postopératoire (1, 4 ou 7 semaines). Par ailleurs, dans un environnement familier, l'activité locomotrice au cours du nycthémère est augmentée pendant la phase nocturne. Alors que la lésion du cortex entorhinal ne modifie pas l'activité diurne, elle augmente l'activité nocturne, et ce quel que soit le délai postopératoire.

Comme nous l'avons vu précédemment (cf. discussion expérience 11), les effets de la lésion du cortex entorhinal sur l'activité locomotrice en réaction à un environnement nouveau ont été évalués la plupart du temps dans un *open field*, et ce à des délais postopératoires assez réduits. Dans cette situation, il a ainsi été montré que la lésion entraînait certes une

hyperactivité locomotrice, mais que celle-ci était transitoire et disparaissait environ 10 jours après la lésion (Fass, 1983 ; Steward et coll., 1977). En accord avec cette observation, la lésion du cortex entorhinal ne modifie pas l'activité locomotrice lorsque celle-ci est évaluée dans un *open field* 1 mois (Hagan et coll., 1992) ou 3 mois (expérience 11) après opération. Cette absence d'effet à long délai postopératoire (de 1 mois à 4,5 mois) a également été observée lorsque l'activité locomotrice (en réaction à un environnement nouveau) est mesurée dans d'autres dispositifs expérimentaux (boîte opérante : Good et Honey, 1997, dispositif similaire à cette expérience : Coutureau et coll., 2000a, dispositif similaire à l'expérience 15 : Coutureau et coll., 1999, ou autre : Ueki et coll., 1994). De fait, les résultats de la présente expérience, à savoir une hyperactivité locomotrice et ce aussi bien à délai postopératoire court (1 semaine) que long (4 et 7 semaines), bien qu'en accord avec les effets décrits à délai court, semblent être en contradiction avec l'absence d'effet généralement observée à délais longs (notamment avec des délais similaires aux nôtres). Des atteintes lésionnelles différentes ne semblent pas pouvoir rendre compte de nos résultats. En effet, l'absence d'effet a été décrite aussi bien avec des lésions sélectives du cortex entorhinal (Coutureau et coll., 1999 ; Coutureau et coll., 2000a ; Ueki et coll., 1994) qu'avec de plus larges lésions de la région rétrohippocampique (Galani et coll., 1997 ; Galani et coll., 1998 ; Good et Honey, 1997, mais Yee et coll., 1995b). De plus, des lésions du subiculum (parfois légèrement endommagé suite à notre lésion) semblent être dépourvues d'effet (Coutureau et coll., 1999) ou même produire l'effet inverse, à savoir une diminution de l'activité locomotrice induite par la nouveauté (Burns et coll., 1996). Enfin, la technique opératoire ne semble pas intervenir, comme en atteste l'absence d'effet obtenue aussi bien avec des lésions excitotoxiques (Coutureau et coll., 1999 ; Coutureau et coll., 2000a ; Good et Honey, 1997 ; Ueki et coll., 1994), ou électrolytiques (Coutureau et coll., 2002), qu'avec des lésions par aspiration (Galani et coll., 1997 ; Galani et coll., 1998, mais Bannerman et coll., 2001). Cette divergence entre nos résultats et l'absence d'effet généralement constaté ne peut donc s'expliquer ni par des différences de délais postopératoires, ni par des différences de nature ou d'étendue de la lésion.

Le protocole comportemental choisi dans cette expérience pourrait rendre compte de cette divergence. L'absence d'effet de la lésion du cortex entorhinal a été décrite dans plusieurs dispositifs expérimentaux (cf. paragraphe précédent), y compris le même dispositif que celui utilisé dans cette expérience (Coutureau et coll., 2000a ; Galani et coll., 1997 ; Galani et coll.,

1998), suggérant que le choix du dispositif expérimental ne représente pas un facteur déterminant en soi. Par contre, il est important de souligner que dans les études utilisant un dispositif identique au notre, les animaux ne sont soumis qu'à un changement de l'environnement distal (placés dans une autre pièce sans changement de cage d'habitation), contrairement à notre protocole expérimental (cf. introduction). Dans notre protocole, l'activité locomotrice est donc supérieure à celle normalement induite par un changement de l'environnement distal seul (Galani et coll., 2001). Les raisons de cette augmentation d'activité pourraient vraisemblablement résulter d'une augmentation du "niveau" de nouveauté, mais les corrélats neurobiologiques ou psychologiques entre l'activité augmentée et un tel changement demeurent inconnus. Ainsi, cette seule différence de "niveau" de nouveauté pourrait être à l'origine de l'effet que nous obtenons dans cette expérience. Il est important de noter qu'un résultat similaire a déjà été décrit suite à des lésions électrolytiques des voies fimbria et fornix (cf. discussion de Galani et coll., 2001). Enfin, l'activité locomotrice en réponse à un environnement nouveau étant concomitante à une libération de dopamine au sein du noyau accumbens (Legault et Wise, 2001 ; Neigh et coll., 2001 ; Rebec et coll., 1997a ; Rebec et coll., 1997b ; Saigusa et coll., 1999), il est possible de spéculer que les effets de la lésion du cortex entorhinal ne peuvent être mis en évidence que sur la base d'un certain niveau d'activité locomotrice, mais également d'un certain niveau d'activité dopaminergique au sein du noyau accumbens.

En ce qui concerne l'activité locomotrice au cours du nycthémère, nos résultats sont en accord avec les études publiées. En effet, alors que les rats présentent une activité locomotrice relativement faible pendant la phase diurne, leur activité pendant la période nocturne est plus importante (Paulson et Robinson, 1994). Cette hyperactivité nocturne est augmentée par la lésion du cortex entorhinal (Galani et coll., 1998 ; Gauthier et Soumireu-Mourat, 1981, mais Coutureau et coll., 2000a). Bien que l'hyperactivité nocturne ne soit que très peu corrélée à la libération de dopamine au niveau striatal (Paulson et Robinson, 1994), cette dernière s'accompagne d'une augmentation de l'activité dopaminergique dans le striatum dorsal (noyau caudé-putamen) et ventral (noyau accumbens) (Le Moal et Simon, 1991 p205 ; Paulson et Robinson, 1994). L'augmentation de l'hyperactivité nocturne induite par la lésion du cortex entorhinal pourrait dès lors être interprétée comme résultant d'une modification du fonctionnement du système dopaminergique. Autrement formulé, les effets de la lésion du

cortex entorhinal ne pourraient être mis en évidence que lorsque le système dopaminergique est fortement sollicité (lors de la phase d'habituation ou lors de la phase nocturne).

En résumé, les résultats de cette expérience montrent que la lésion du cortex entorhinal augmente l'activité locomotrice induite par la nouveauté, ainsi que l'hyperactivité nocturne. Afin de confirmer que la lésion du cortex entorhinal augmente l'activité locomotrice lorsque le système dopaminergique est fortement sollicité, les effets de la lésion sur l'activité locomotrice induite par l'administration d'amphétamine dans un environnement avec lequel les animaux sont familiarisés ont été évalués dans l'expérience suivante.

EXPERIENCE 14 : EFFET DE LA LESION DU CORTEX ENTORHINAL SUR L'ACTIVITE LOCOMOTRICE INDUITE PAR L'ADMINISTRATION DE *D*-AMPHETAMINE

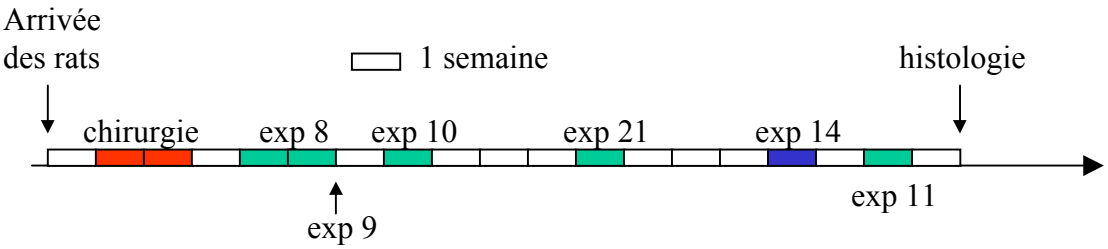
Introduction

Cette expérience a pour but d'évaluer les effets de la lésion du cortex entorhinal sur l'activité locomotrice consécutivement à l'activation du système dopaminergique méso-accumbens induite par l'administration de *d*-amphétamine. La *d*-amphétamine affecte plusieurs systèmes de neurotransmission (del Arco et coll., 1999), mais elle est généralement considérée comme un agoniste catécholaminergique indirect en cela qu'elle augmente la concentration extracellulaire de la dopamine et de la noradrénaline (Kuczenski et Segal, 1994 ; Solanto, 1998). Les "comportements moteurs" induits par la *d*-amphétamine ont été imputés principalement à son action sur le système dopaminergique (Creese et Iversen, 1972 ; Gold et coll., 1989 ; Kelly et coll., 1975, mais Darracq et coll., 1998), via une augmentation de l'activation des récepteurs postsynaptiques à la dopamine (O'Neill et Shaw, 1999). La *d*-amphétamine induit des effets comportementaux qualitativement différents en fonction de la dose utilisée (pour revue et choix de la terminologie, voir Grilly et Loveland, 2001). Ainsi, à doses faibles (0,1 - 0, 4 mg/kg) et modérées (0,4 - 1 mg/kg), l'amphétamine augmente l'activité locomotrice. A doses élevées (1 - 3 mg/kg), on obtient une très forte augmentation de la locomotion, et on observe quelques signes de comportements stéréotypés. Enfin, à doses très élevées (> 3 mg/kg), l'amphétamine induit essentiellement des stéréotypies. Alors que les stéréotypies sont dues à l'activation du système dopaminergique nigro-striatal, l'hyperactivité locomotrice induite par l'amphétamine est essentiellement due à l'activation du système dopaminergique mésolimbique (Kelly et coll., 1975 ; Sharp et coll., 1987 ; Staton et Solomon, 1984). De fait, des concentrations de modérées à élevées (0,5 ; 1 et 2 mg/kg) ont été choisies dans cette expérience, concentrations induisant une libération préférentielle de dopamine dans le noyau accumbens (Di Chiara et coll., 1993).

Matériel et méthodes

Animaux

Les rats sont les mêmes que ceux de l'expérience 8, qui ont également été utilisés dans les expériences 9, 10 et 11 (voir ci-dessous, l'expérience en cours étant figurée en bleu). Les animaux ont accès à la nourriture et à la boisson *ad libitum*. Les effectifs des différents groupes, à l'issue de la vérification histologique, sont les suivants : PSEUDO-AMPH 0 (n=13), PSEUDO-AMPH 0,5 (n=12), PSEUDO-AMPH 1 (n=13), PSEUDO-AMPH 2 (n=12), ENTO-AMPH 0 (n=11), ENTO-AMPH 0,5 (n=10), ENTO-AMPH 1 (n=8) et ENTO-AMPH 2 (n=9).



Protocole

Le matériel est identique à celui de l'expérience précédente.

Jour 1 : Dans les quinze minutes qui précèdent le début de l'enregistrement, les animaux sont déplacés de la colonie vers la salle d'expérience (non attenante à cette dernière) et placés individuellement dans une nouvelle cage. L'enregistrement de l'activité locomotrice débute à 9 heures pour une durée de 3 heures (phase d'habituation). A l'issue de cette période, on procède à l'injection de *d*-amphétamine par voie intrapéritonéale, puis l'animal est replacé immédiatement dans sa cage. Un nouvel enregistrement débute alors pour une durée de 3 heures (phase de test). Les animaux sont ensuite replacés par deux dans leur cage d'habitation et reconduits dans la colonie.

Jour 2 : Ceci est répété le lendemain.

Traitements pharmacologiques

La *d*-amphétamine (Sigma) est dissoute dans du liquide physiologique (NaCl 0,9 %) de façon à obtenir les concentrations suivantes : 0 ; 0,5 ; 1 et 2 mg/kg pour un volume d'injection de 1 ml/kg.

Analyse des données

Pour la phase d'habituation, le nombre de passage (activité locomotrice) fait l'objet d'une analyse de variance (ANOVA) à deux facteurs (facteur Lésion à deux niveaux [PSEUDO ; ENTO] et facteur Heure à 3 niveaux) et ce pour les jours 1 et 2.

Pour la phase de test, le nombre de passage (activité locomotrice) fait l'objet d'une analyse de la variance (ANOVA) à 2 facteurs (facteur Lésion à deux niveaux [PSEUDO ; ENTO] et facteur Traitement à 4 niveaux [AMPH 0 ; AMPH 0,5 ; AMPH 1 ; AMPH 2]) et ce pour les jours 1 et 2. De plus, afin d'évaluer les effets d'injections répétées (sensibilisation comportementale), l'activité locomotrice (totale sur les 3 heures) fait l'objet d'une ANOVA à 3 facteurs (facteur Lésion à deux niveaux [PSEUDO ; ENTO], facteur Traitement à 4 niveaux [AMPH 0 ; AMPH 0,5 ; AMPH 1 ; AMPH 2] et facteur Jour à 2 niveaux).

Les différences entre les groupes sont établies par des comparaisons *post-hoc* avec le test de Newman-Keuls.

Résultats

Activité locomotrice le premier jour (Jour 1)

Dans les deux groupes, l'activité locomotrice pendant la phase d'habituation décroît rapidement entre la 1ère et la 2ème heure, puis de façon moins marquée entre la 2ème et la 3ème heure, les animaux ENTO semblant être plus actifs que les animaux PSEUDO lors de la première heure (données non illustrées). Cette description des données est confirmée par l'ANOVA qui révèle un effet du facteur Heure ($F(2,172)=251,34$, $p<0,0001$), le facteur Lésion étant proche d'être significatif ($F(1,86)=3,16$, $p=0,08$), mais pas de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(2,172)=0,88$, ns). L'analyse *post-hoc* de comparaisons multiples entre groupes indique que dans les deux groupes, la 1ère heure diffère significativement de la 2ème et

3ème heure (p<0,0001 dans les deux cas) et que la 2ème heure diffère significativement de la 3ème heure (p<0,0001 dans les deux cas).

La figure 14.1 montre l'activité locomotrice totale (sur les 3 heures) pendant la phase de test pour les différents groupes. Dans les deux groupes PSEUDO et ENTO, l'activité locomotrice augmente de façon dose dépendante. Cependant les animaux ENTO présentent une activité plus importante que les animaux PSEUDO, notamment aux deux plus fortes concentrations. L'ANOVA révèle un effet du facteur Traitement ($F(3,80)=7,58$, $p<0,001$), mais pas du facteur Lésion ($F(1,80)=2,30$, ns), ni de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(3,80)=1,32$, ns). L'analyse *post-hoc* sur le facteur Traitement montre que le groupe AMPH 0 diffère significativement des groupes AMPH 1 et AMPH 2 ($p<0,01$ et $p<0,001$) et tend à différer du groupe AMPH 0,5 ($p=0,08$). L'analyse *post-hoc* de comparaisons multiples entre groupes indique que les groupes ENTO-AMPH 1 et ENTO-AMPH 2 diffèrent du groupe ENTO-AMPH 0 ($p<0,01$ et $p<0,05$ respectivement), que le groupe ENTO-AMPH 1 tend à différer du groupe PSEUDO-AMPH 1 ($p=0,08$) et que le groupe PSEUDO-AMPH 2 tend à différer du groupe PSEUDO-AMPH 0 ($p=0,09$).

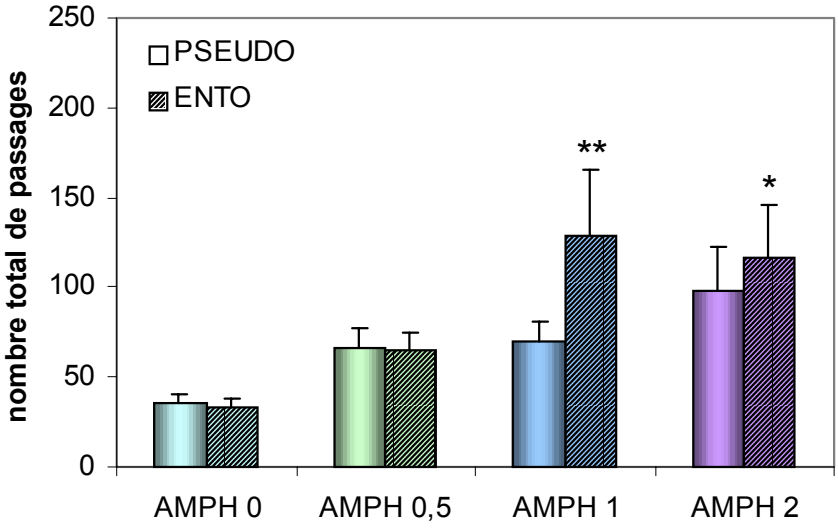


Figure 14.1 : Effet de la lésion du cortex entorhinal sur l'activité locomotrice induite par la *d*-amphétamine. Moyenne (± erreur type) du nombre total de passage pendant la phase de test (Jour 1). * : $p<0,05$ et ** : $p<0,01$ par rapport au groupe ENTO-AMPH 0. *L'administration de d-amphétamine produit une augmentation dose-dépendante de l'activité locomotrice des animaux, notamment chez les animaux ENTO aux concentrations de 1 et 2 mg/kg.*

Activité locomotrice le deuxième jour (Jour 2)

Dans les deux groupes, l'activité locomotrice pendant la phase d'habituation décroît rapidement entre la 1ère et la 2ème heure, puis de façon moins marquée entre la 2ème et la 3ème heure (données non illustrées). Cette description des données est confirmée par l'ANOVA qui révèle un effet du facteur Heure ($F(2,172)=115,98$, $p<0,0001$), mais pas du facteur Lésion ($F(1,86)=2,34$, ns), ni de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(2,172)=0,91$, ns). L'analyse *post-hoc* de comparisons multiples entre groupes indique que dans les deux groupes, la 1ère heure diffère significativement de la 2ème et 3ème heure ($p<0,0001$ dans les deux cas) et que la 2ème heure diffère significativement de la 3ème heure ($p<0,05$ au moins).

La figure 14.2 montre l'activité locomotrice totale (sur les 3 heures) pendant la phase de test pour les différents groupes. Dans les deux groupes PSEUDO et ENTO, l'activité locomotrice augmente de façon dose dépendante. Cependant les animaux ENTO présentent une activité plus importante que les animaux PSEUDO, notamment aux deux plus fortes concentrations. L'ANOVA révèle un effet du facteur Traitement ($F(3,80)=14,00$, $p<0,0001$), mais pas du facteur Lésion ($F(1,80)=1,69$, ns), ni de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(3,80)=1,92$, ns). L'analyse *post-hoc* sur le facteur Traitement montre que le groupe AMPH 0 diffère significativement des groupes AMPH 1 et AMPH 2 ($p<0,01$ et $p<0,001$, respectivement) et que le groupe AMPH 2 diffère également des groupes AMPH 0,5 et AMPH 1 ($p<0,001$ et $p<0,01$, respectivement). L'analyse *post-hoc* de comparaisons multiples entre groupes indique que le groupe PSEUDO-AMPH 2 diffère du groupe PSEUDO-AMPH 0 ($p<0,01$), que les groupes ENTO-AMPH 1 et ENTO-AMPH 2 diffèrent du groupe ENTO-AMPH 0 ($p<0,01$ et $p<0,001$, respectivement) et que le groupe ENTO-AMPH 1 diffère du groupe PSEUDO-AMPH 1 ($p<0,05$).

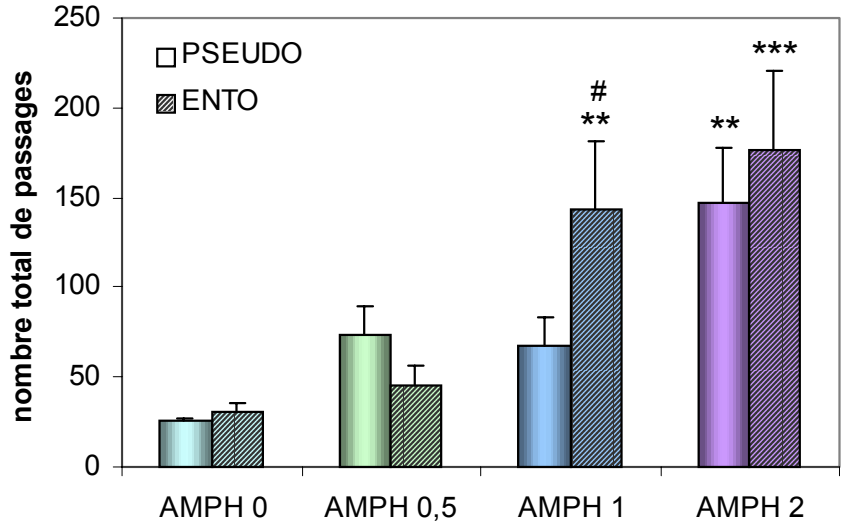


Figure 14.2 : Effet de la lésion du cortex entorhinal sur l'activité locomotrice induite par la *d*-amphétamine. Moyenne (± erreur type) du nombre total de passage pendant la phase de test (Jour 2). ** : p<0,01 et *** : p<0,001 par rapport au groupe AMPH 0 de la même condition chirurgicale et # : p<0,05 par rapport au groupe PSEUDO-AMPH 1. *L'administration de d-amphétamine produit une augmentation dose-dépendante de l'activité locomotrice des animaux, cette hyperactivité étant plus marquée chez les animaux ENTO que chez les animaux PSEUDO à la concentration de 1 mg/kg.*

Sensibilisation comportementale (différence Jour1 et Jour 2)

Seuls les animaux du groupe AMPH 2, et ce aussi bien pour les animaux PSEUDO que ENTO, semblent présenter une augmentation de l'activité au Jour 2 comparé au Jour 1. Cette description des résultats est confirmée par l'ANOVA qui révèle un effet du facteur Traitement ($F(3,80)=14,44$, $p<0,0001$), mais pas des facteurs Lésions ($F(1,80)=2,64$, ns), Jour ($F(1,80)=2,69$, ns), ni d'aucune interaction entre ces facteurs, excepté celle entre les facteurs Traitement et Jour ($F(3,80)=3,78$, $p<0,05$). Bien que l'interaction de deuxième ordre ne soit pas significative ($F(3,80)=0,48$, ns), les effets simples de l'interaction entre les facteurs Jour et Lésion ont été analysés séparément pour chacun des quatre groupes de traitement, les effets simples de l'interaction entre les facteurs Jour et Traitement analysés séparément pour chacune des deux conditions lésionnelles ayant révélé que chez les animaux PSEUDO, le groupe AMPH 2 au Jour 2 diffère du groupe AMPH 0 au Jour 2 et du groupe AMPH 2 au Jour 1 ($p<0,01$ dans les deux cas), alors que chez les animaux ENTO le groupe AMPH 2 au Jour 2 ne diffère que du groupe AMPH 0 au Jour 2 ($p<0,05$). L'ANOVA pour le groupe AMPH 0 révèle un effet du facteur Jour ($F(1,22)=5,36$, $p<0,05$), mais pas du facteur Lésion

(F(1,22)=0,07, ns), ni de l'interaction entre ces deux facteurs (F(1,22)=1,76, ns). L'analyse *post-hoc* de comparaisons multiples entre groupes indique que les animaux PSEUDO tendent à être moins actifs au Jour 2 (p=0,08). L'ANOVA pour le groupe AMPH 0,5 ne révèle aucun effet des facteurs Jour (F(1,20)=0,37, ns), Lésion (F(1,20)=0,94, ns), ni de l'interaction entre ces deux facteurs (F(1,20)=2,18, ns). L'analyse *post-hoc* de comparaisons multiples entre groupes ne fait ressortir aucune différence. L'ANOVA pour le groupe AMPH 1 révèle un effet du facteur Lésion (F(1,19)=5,34, p<0,05), mais pas du facteur Jour (F(1,19)=0,16, ns), ni de l'interaction entre ces deux facteurs (F(1,19)=0,26, ns). L'analyse *post-hoc* de comparaisons multiples entre groupes ne fait ressortir aucune différence. L'ANOVA pour le groupe AMPH 2 révèle un effet du facteur Jour (F(1,19)=4,99, p<0,05), mais pas du facteur Lésion (F(1,19)=0,41, ns), ni de l'interaction entre ces deux facteurs (F(1,19)=0,06, ns). L'analyse *post-hoc* de comparaisons multiples entre groupes ne fait ressortir aucune différence.

Discussion

Les résultats de cette expérience montrent que l'administration de *d*-amphétamine produit une augmentation dose-dépendante de l'activité locomotrice des animaux. Par ailleurs, cette réponse est augmentée chez les animaux lésés, notamment à la concentration de 1 mg/kg. Ainsi, seule la concentration de 2 mg/kg permet d'induire une hyperactivité locomotrice chez les animaux PSEUDO, alors que celle-ci est obtenue dès la concentration de 1 mg/kg chez les animaux ENTO. Un pattern similaire est retrouvé lors des deux injections, excepté pour la concentration de 2 mg/kg, où les effets sont plus marqués lors de la deuxième injection.

En accord avec la littérature, la *d*-amphétamine stimule l'activité locomotrice dans un environnement familier (par exemple, voir Coutureau et coll., 2002 ; Warburton et coll., 1996). Alors que cette hyperactivité locomotrice a été décrite à doses modérées (0,4 - 1 mg/kg ; pour revue, voir Grilly et Loveland, 2001), nos résultats (chez les animaux PSEUDO) ne montrent une augmentation significative de la locomotion qu'à la concentration de 2 mg/kg. L'absence d'effet significatif à la concentration de 1 mg/kg peut paraître surprenant au vu des descriptions d'une augmentation quasiment systématique de l'activité locomotrice à cette concentration, mais un effet comparable a déjà été obtenu au sein du laboratoire (Riegert et coll., sous presse). Cependant, il existe une tendance claire à une augmentation de la locomotion (et ce dès 0,5 mg/kg) et l'absence d'effet significatif pourrait s'expliquer par le

niveau de manipulation des animaux (manipulés pendant plusieurs mois) et le degré de familiarité avec l'environnement dans lequel ils ont été testés. En effet, les effets moteurs de l'amphétamine évalués dans un environnement familier sont moins marqués que ceux évalués dans un environnement nouveau (Badiani et coll., 1995a), et ce avec des doses faibles à modérées comparables aux nôtres (Browman et coll., 1998). Cette différence pourrait être attribuée à la composante stressante de la nouveauté (Cador et coll., 1993, mais Badiani et coll., 1995b) et se traduit par une activation neuronale (révélée par l'induction du gène *c-fos*) plus marquée au niveau striatal (Badiani et coll., 1998), celle-ci ne résultant cependant pas d'une libération supérieure de dopamine (Badiani et coll., 1998 ; Badiani et coll., 2000). Bien que les effets de l'amphétamine dans notre expérience soient peu marqués, ceci n'altère en rien la possibilité de déceler une modification induite par la lésion du cortex entorhinal.

La lésion du cortex entorhinal augmente l'activité locomotrice induite par l'administration de *d*-amphétamine (1mg/kg). Peu d'études soutiennent l'implication du cortex entorhinal dans les effets comportementaux (activité locomotrice) de l'amphétamine (Coutureau et coll., 2000a ; Yee et coll., 1995b), la plupart ayant décrit une absence d'effet de lésions du cortex entorhinal, aussi bien après des lésions excitotoxiques (Coutureau, 1999), des lésions électrolytiques (Coutureau et coll., 2002), des lésions par aspiration (Mittleman et coll., 1998) que des lésions à la 6-OHDA (Bjijou et coll., 2002 ; Louilot et Choulli, 1997). Une augmentation de l'hyperactivité induite par l'amphétamine (1 mg/kg) a déjà été obtenue suite à des lésions de la région rétrohippocampique (Yee et coll., 1995b), suggérant qu'un tel effet ne pourrait être obtenu que dans le cas de larges lésions englobant le subiculum ventral. Cependant, les résultats similaires obtenus avec des lésions restreintes au cortex entorhinal (Coutureau et coll., 2000a) et l'absence d'effet décrit après des atteintes du subiculum ventral (Caine et coll., 2001) semblent réfuter l'hypothèse selon laquelle notre effet (ainsi que celui de Yee et collaborateurs) pourrait résulter d'une atteinte lésionnelle différente par rapport à celle des études ne décrivant pas d'effet. L'utilisation d'un délai postopératoire particulièrement long (aussi bien dans notre expérience que dans les études de Yee et collaborateurs et de Coutureau et collaborateurs) semble être une explication plus probable, suggérant que l'effet de la lésion dépendrait d'un mécanisme ne se mettant en place qu'à très long terme. Quant aux raisons pour lesquels cet effet se manifeste à la concentration de 1 mg/kg, mais pas à plus faible (0,5 mg/kg) ou plus forte (2 mg/kg) concentrations, elles demeurent inconnues (pour un effet similaire avec une lésion hippocampique, voir Schaub et coll., 1997).

Le(s) mécanisme(s) par le(s)quel(s) la lésion augmente la réponse comportementale à l'amphétamine n'est (ne sont) pas connu(s), mais plusieurs hypothèses peuvent être avancées. Bien que l'amphétamine soit administrée de façon systémique et de fait puisse agir dans de nombreuses régions cérébrales (voir Eison et coll., 1981), il semble vraisemblable d'imputer l'hyperactivité locomotrice induite par cette dernière à une augmentation de l'activité dopaminergique méso-accumbens (voir introduction). Dès lors, les effets de la lésion du cortex entorhinal peuvent résulter d'une altération de cette activité dopaminergique méso-accumbens, et ce aussi bien à un niveau présynaptique (augmentation de la libération de dopamine) qu'à un niveau postsynaptique (augmentation de l'efficacité des récepteurs à la dopamine ou interaction avec d'autres systèmes de neurotransmission). Plusieurs mécanismes pourraient rendre compte d'une libération de dopamine augmentée suite à la lésion du cortex entorhinal (effet présynaptique). Il a ainsi été proposé (Yee et coll., 1995b, sur la base du modèle proposé par Wilkinson et coll., 1993) que la lésion du cortex entorhinal réduirait l'activation de l'hippocampe, ce qui en retour conduirait à une désinhibition de la transmission subiculo-accumbens (transmission activant la libération de dopamine) et donc à une augmentation de la libération de dopamine dans le noyau accumbens. Par ailleurs, parmi les structures ciblées par l'amphétamine figure le cortex entorhinal (Eison et coll., 1981) et, l'infusion d'amphétamine dans le cortex entorhinal produit une diminution de la libération de dopamine au niveau du noyau accumbens (Saigusa et coll., 1997). L'augmentation de l'hyperactivité locomotrice induite par la lésion, et donc probablement l'augmentation de l'activité dopaminergique méso-accumbens, pourrait dès lors simplement résulter de la suppression de cet effet inhibiteur. Cependant, ces deux mécanismes ne tiennent pas compte du délai postopératoire et semblent impliquer un effet "immédiat", ne permettant donc pas d'expliquer que les constats d'effet de la lésion ne concernent que les études ayant utilisé un long délai postopératoire (cf. paragraphe précédent). De plus, il a été montré que la lésion du cortex entorhinal, à un délai postopératoire similaire à celui auquel aucun effet comportemental n'est obtenu, n'entraîne pas de modification de la libération de dopamine dans le noyau accumbens (Coutureau et coll., 2002). Ceci ne permet cependant pas d'exclure toute possibilité d'une altération de la neurotransmission dopaminergique au sein du noyau accumbens suite à la lésion du cortex entorhinal (effet présynaptique). En effet, il existe différents constats d'altération de la libération de dopamine dans le noyau accumbens suite à des modifications au niveau du cortex entorhinal (Louilot et Le Moal, 1994 ; Louilot et Choulli, 1997 ; Saigusa et coll., 1997 ; Uehara et coll., 2000), suggérant l'existence d'un lien

fonctionnel entre le cortex entorhinal et le système dopaminergique méso-accumbens. Etant donné l'absence de projection directe entorhino-tegmentale, ces effets pourraient dépendre d'une interaction entre les afférences glutamatergiques du cortex entorhinal (Finch et coll., 1995) et les afférences dopaminergiques méso-accumbens. L'implication d'une voie indirecte (par exemple *via* l'amygdale et/ou le cortex préfrontal) peut également être proposée étant donné le lien anatomique existant entre le cortex entorhinal et ces structures cérébrales (voir introduction générale) et leur rôle dans le contrôle de l'activité dopaminergique méso-accumbens (par exemple, voir Louilot et Besson, 2000 ; Tzschentke et Schmidt, 2000). Plus spécifiquement, il semblerait que le cortex entorhinal exercerait un contrôle excitateur sur la transmission dopaminergique méso-accumbens (Louilot et Le Moal, 1994). Dès lors, sur la base du modèle de Grace (Grace, 1991), l'on peut proposer que la perte des afférences glutamatergiques entorhino-accumbens (tout comme celles en provenance du cortex préfrontal comme proposé dans le modèle) produise une diminution de la libération tonique de dopamine, et par conséquent une désinhibition de la libération phasique de dopamine (pour plus de détails, voir Grace, 1991 ; Grace, 1995 ; Grace, 2000). Ce mécanisme présente l'avantage de rendre compte de l'importance du délai postopératoire, puisque les compensations homéostatiques intervenant pour restaurer la stimulation constitutive des récepteurs dopaminergiques à son niveau basal, ne se mettent en place que si la diminution du niveau tonique de dopamine est maintenue pendant de longues périodes. De plus, il faut noter que ces compensations peuvent se situer au niveau présynaptique, mais également au niveau postsynaptique.

L'administration répétée de drogues telle que l'amphétamine entraîne une augmentation progressive et durable de leurs effets psychomoteurs (pour revue, voir Vanderschuren et Kalivas, 2000). Ce phénomène, appelé sensibilisation comportementale, comprends deux processus distincts d'un point de vu temporel (mais également anatomique ; voir plus loin) : l'initiation (ou induction) et l'expression. Généralement, la sensibilisation est induite par un traitement intermittent (et répété) avec des concentrations modérées de la drogue, mais peut l'être également par une injection unique de la drogue à concentration élevée (voir Vanderschuren et coll., 1999). L'expression quant à elle est généralement évaluée (après une période d'abstinence plus ou moins longue) en mesurant les effets induits par une faible concentration de la drogue (ceux-ci étant comparés à ceux obtenus chez les animaux recevant ce traitement pour la première fois). Il convient donc de remarquer que nos conditions

expérimentales (seulement 2 injections, séparées de 24 heures) ne conviennent pas à une évaluation optimale de l'expression de la sensibilisation comportementale (l'expérience n'ayant pas été conduite dans ce but), mais permettent de nous apporter cependant quelques renseignements quant à son développement (tout au moins le début). Dans notre expérience, la réponse comportementale induite par la plus forte concentration d'amphétamine (2 mg/kg) augmente entre la première et la deuxième injection, indiquant la mise en place d'une sensibilisation comportementale. Celle-ci n'a pu être mise en évidence avec les deux concentrations les plus faibles, et ce certainement pour des raisons de protocole, mais aussi pour celles évoquées précédemment concernant les effets peu marqués de l'amphétamine (voir Badiani et coll., 1995a ; Browman et coll., 1998 ; Robinson et coll., 1998). La sensibilisation observée à la concentration de 2 mg/kg n'est pas affectée par la lésion du cortex entorhinal. Ce résultat ne peut être confronté à d'autres études publiées, mais s'accorde avec l'absence d'effet sur le développement et l'expression de la sensibilisation obtenue à la suite d'une lésion à la 6-OHDA du cortex entorhinal (Bjijou et coll., 2002). Le résultat obtenu avec la concentration de 1 mg/kg est particulièrement intéressant, en cela que les animaux lésés se comportent comme s'ils avaient déjà été sensibilisés, comme l'ont proposé Coutureau et collaborateurs (Coutureau et coll., 2000a). Un effet similaire a déjà été décrit après une lésion des voies fimbria et fornix (Browman et coll., 1996), mais les mécanismes demeurent inconnus (cf. paragraphe précédent). Alors que l'implication du système dopaminergique (notamment le système méso-accumbens) a été clairement établie, et ce aussi bien dans l'induction que dans l'expression de la sensibilisation comportementale, l'implication du système glutamatergique est plus récente (pour revue, voir Wolf, 1998). L'induction de la sensibilisation dépendrait d'une interaction entre la dopamine (stimulation des récepteurs D_1) et le glutamate (stimulation des récepteurs NMDA) au sein de l'aire tegmentale ventrale (pour revue, voir Vanderschuren et Kalivas, 2000). Quant à son expression, les données sont moins claires, mais suggèrent une interaction dopamine-glutamate au niveau du noyau accumbens (Pierce et Kalivas, 1997 ; Vanderschuren et Kalivas, 2000 ; Wolf, 1998). L'innervation glutamatergique de l'aire tegmentale ventrale, nécessaire à l'induction de la sensibilisation, proviendrait du cortex préfrontal (Cador et coll., 1999 ; Wolf et coll., 1995) et non du cortex entorhinal comme le suggère notre résultat, mais également l'absence de projection directe du cortex entorhinal vers l'aire tegmentale ventrale. La possibilité d'une participation (*via* une projection vers le cortex préfrontal) n'est cependant pas exclue, comme c'est le cas par exemple pour l'amygdale (Cador et coll., 1999 ; Wolf et coll., 1995). Nos résultats, tout comme ceux de Coutureau et collaborateurs (Coutureau et

coll., 2000a) laisseraient plutôt supposer un rôle dans l'expression de la sensibilisation comportementale, la projection glutamatergique entorhino-accumbens rendant crédible une telle hypothèse.

En résumé, les résultats de cette expérience montrent que la lésion du cortex entorhinal augmente l'hyperactivité locomotrice induite par une concentration modérée d'amphétamine.

EXPERIENCE 15 : MISE EN EVIDENCE DE LA PREFERENCE DE PLACE INDUITE PAR LA *D*-AMPHETAMINE

Introduction

Le but de cette expérience est de mettre en évidence la préférence de place induite par la *d*-amphétamine, dont les effets récompensants dépendent directement de son action au sein du noyau accumbens (voir Bardo, 1998 et introduction de ce chapitre). Le paradigme de préférence de place conditionnée est généralement utilisé pour évaluer les propriétés récompensantes de composés (Bardo et Bevins, 2000). Une expérience typique de préférence de place conditionnée comprend l'association différentielle de deux environnements distincts (contexte 1 et 2) avec le stimulus d'intérêt (drogue) et son témoin. L'animal reçoit à plusieurs reprises le stimulus d'intérêt dans un des contextes (1). Parallèlement à cette association, une exposition à l'autre contexte (2) en l'absence du stimulus d'intérêt est réalisée. La préférence de place est évaluée lors d'un test au cours duquel on donne la possibilité à l'animal d'explorer librement les deux contextes en l'absence des stimuli (d'intérêt et témoin), une augmentation du temps passé dans le contexte 1 (comparativement au contexte 2) étant révélatrice des propriétés récompensantes du stimulus d'intérêt.

Matériel et méthodes

Animaux

Soixante quatre rats sont utilisés dans cette expérience. Ces rats proviennent de l'expérience 4 (réponse émotionnelle conditionnée), à l'issue de laquelle ils ont été déplacés dans une animalerie attenante à une autre salle d'expérience. Ils ont alors accès à la nourriture et à la boisson *ad libitum* pendant 5 jours avant le début de cette expérience, leur poids moyen étant alors de 340 grammes.

Matériel

Quatre boîtes constituées chacune de trois compartiments, deux grands (45 x 45 x 30 cm) et un petit (36 x 18 x 30 cm), sont utilisées (figure 15.1). Les parois arrière, latérales, internes

et supérieures des deux grands compartiments sont en bois tandis que la paroi avant est en plexiglas transparent, le plancher de ces deux compartiments étant grillagé. La paroi interne des deux compartiments est munie d'une porte guillotine qui, une fois enlevée, permet d'accéder au petit compartiment (zone de transit entre les deux grands compartiments) dont les 6 parois sont en bois peint en gris. Les deux grands compartiments constituent deux environnements pouvant être discriminés : pour l'un les parois latérales sont blanches avec des rayures noires, et pour l'autre les parois latérales sont peintes en noir. Les animaux ne présentent pas de préférence pour l'un ou l'autre de ces compartiments avant le conditionnement : il s'agit par conséquent d'une situation dite «équilibrée» (*unbiased, balanced* ; Tzschentke, 1998). Chacun des trois compartiments est équipé d'un détecteur à infrarouge (modèle TALCO) équipé avec une lentille de Fresnel qui permet de détecter la présence et les mouvements de l'animal. Chaque mouvement de l'animal induit une impulsion qui est envoyée à une interface électronique (construite au laboratoire) connectée à un ordinateur programmé pour piloter l'ensemble de l'expérience et collecter les données.

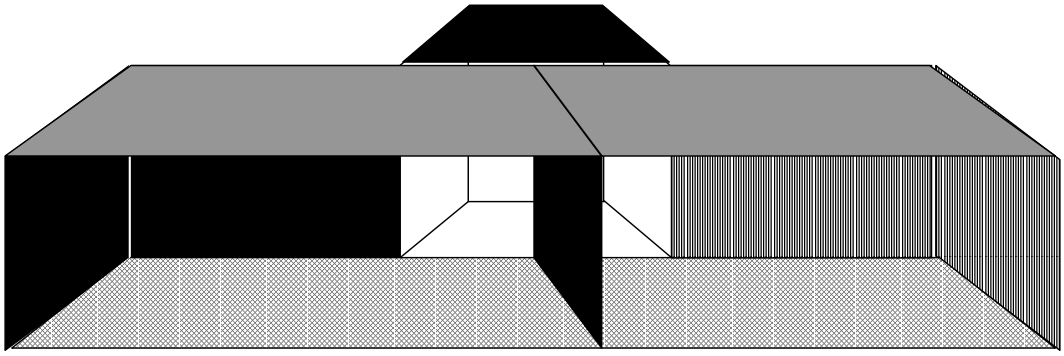


Figure 15.1 : Représentation schématique de la boîte de préférence de place.

Protocole

L'expérience comporte trois phases : pré-conditionnement, conditionnement et test.

Pré-conditionnement (J0)

Cette phase a pour but de vérifier l'absence de préférence spontanée des animaux pour l'un ou l'autre des deux grands compartiments. L'animal est placé dans le petit compartiment et,

les portes guillotines étant enlevées, peut avoir accès librement aux trois compartiments pendant 15 minutes. Le temps passé dans chacun des compartiments est enregistré.

Conditionnement (J1 à J8)

Pendant cette phase, les portes guillotines sont en place et isolent les compartiments. Chaque jour, l'animal reçoit une injection intrapéritonéale, à raison de 1 ml/kg, alternativement de la substance active ou son solvant (NaCl 0,9 %) et ce 10 minutes avant d'être confiné dans l'un des deux grands compartiments pour une durée de 30 minutes. Chaque rat est soumis à quatre associations entre la substance active et l'un des compartiments (J1, J3, J5 et J7) et quatre associations entre le solvant et l'autre compartiment (J2, J4, J6 et J8). Le conditionnement avec la substance active se fait pour la moitié des rats dans un compartiment et pour l'autre moitié dans l'autre compartiment, de telle sorte que le protocole soit contrebalancé. Pendant cette phase, l'activité locomotrice (nombre de mouvements) des rats est enregistrée par blocs de 5 minutes.

Test (J9)

Cette phase se déroule de la même façon que le pré-conditionnement, les portes guillotines étant enlevées. L'animal est placé dans le petit compartiment et le temps passé dans chacun des compartiments est enregistré.

Traitements pharmacologiques

La *d*-amphétamine (Sigma) est dissoute dans du liquide physiologique (NaCl 0,9 %) de façon à obtenir les concentrations suivantes : 0 ; 0,25 ; 0,5 ; 1 ; 2 et 4 mg/kg. Six groupes de rats sont ainsi constitués : AMPH 0 (n=11), AMPH 0,25 (n=11), AMPH 0,5 (n=11), AMPH 1 (n=11), AMPH 2 (n=10) et AMPH 4 (n=10).

Analyse des données

Pour la phase de pré-conditionnement, les mesures de temps passé dans chacun des deux grands compartiments sont utilisées pour calculer un indice de préférence (préférence de

place) correspondant à la différence de temps passé dans le compartiment qui sera associé au composé actif et dans le compartiment qui sera associé au solvant. L'indice de préférence fait l'objet d'une analyse de variance (ANOVA) à un facteur (facteur Traitement à six niveaux [AMPH 0 ; AMPH 0,25 ; AMPH 0,5 ; AMPH 1 ; AMPH 2 ; AMPH 4]).

Pour la phase de conditionnement, l'activité locomotrice totale (au cours des 30 minutes de test) pendant les 4 jours de conditionnement avec la substance active (J1, J3, J5 et J7) fait l'objet d'une ANOVA à deux facteurs (facteur Traitement à six niveaux [AMPH 0 ; AMPH 0,25 ; AMPH 0,5 ; AMPH 1 ; AMPH 2 ; AMPH 4] et facteur Jour à 4 niveaux).

Pour la phase de test, les mesures de temps passé dans chacun des deux grands compartiments sont utilisées pour calculer un indice de préférence (préférence de place) correspondant à la différence de temps passé dans le compartiment associé au composé actif et dans le compartiment associé au solvant. L'indice de préférence fait l'objet d'une analyse de variance (ANOVA) à un facteur (facteur Traitement à six niveaux [AMPH 0 ; AMPH 0,25 ; AMPH 0,5 ; AMPH 1 ; AMPH 2 ; AMPH 4]).

Les différences entre les groupes sont établies par des comparaisons *post-hoc* avec le test de Newman-Keuls.

Résultats

Pré-conditionnement

En moyenne, les animaux de chacun des groupes (déterminés à priori) passent autant de temps dans le compartiment qui sera associé au composé actif que dans le compartiment qui sera associé au solvant, l'indice de préférence étant de ce fait proche de 0 (38,48 ± 21,8 pour tous les groupes confondus). Cette absence de différence entre les groupes est confirmée par l'ANOVA ($F(5,58)=0,92$, ns).

Conditionnement

La figure 15.2 représente l'activité locomotrice totale lors des quatre jours de conditionnement sous la substance active (J1, J3, J5 et J7). Globalement, le groupe AMPH 2 présente une activité supérieure à celle des autres groupes, notamment au groupe AMPH 4 qui lui présente une activité inférieure à celle des autres groupes. Pour tous les groupes, l'activité

locomotrice reste stable au fil des jours, à l'exception d'une chute entre le jour J1 et le jour J3 pour le groupe AMPH4, Cette description des données est confirmée par l'ANOVA qui révèle un effet des facteurs Traitement ($F(5,58)=13,16$, $p<0,0001$), Jour ($F(3,174)=54,43$, $p<0,01$), ainsi que de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(15,174)=1,96$, $p<0,05$). L'analyse *post-hoc* sur le facteur Traitement indique que le groupe AMPH 2 présente une activité locomotrice différente de celle de tous les groupes ($p<0,01$ au moins) et que le groupe AMPH 4 présente une activité locomotrice différente de celle de tous les groupes ($p<0,05$ au moins). L'analyse *post-hoc* sur le facteur Jour montre que l'activité au jour J1 diffère de l'activité aux jours J5 et J7 ($p<0,01$ dans les deux cas). L'analyse *post-hoc* sur l'interaction indique que pour le groupe AMPH 4, l'activité locomotrice au jour J1 est différente de celle des jours J3, J5 et J7 ($p<0,05$ au moins). De plus, l'activité locomotrice du groupe AMPH 4 aux jours J3, J5 et J7 est inférieure à celle du groupes AMPH2 aux mêmes jours ($p<0,05$ au moins).

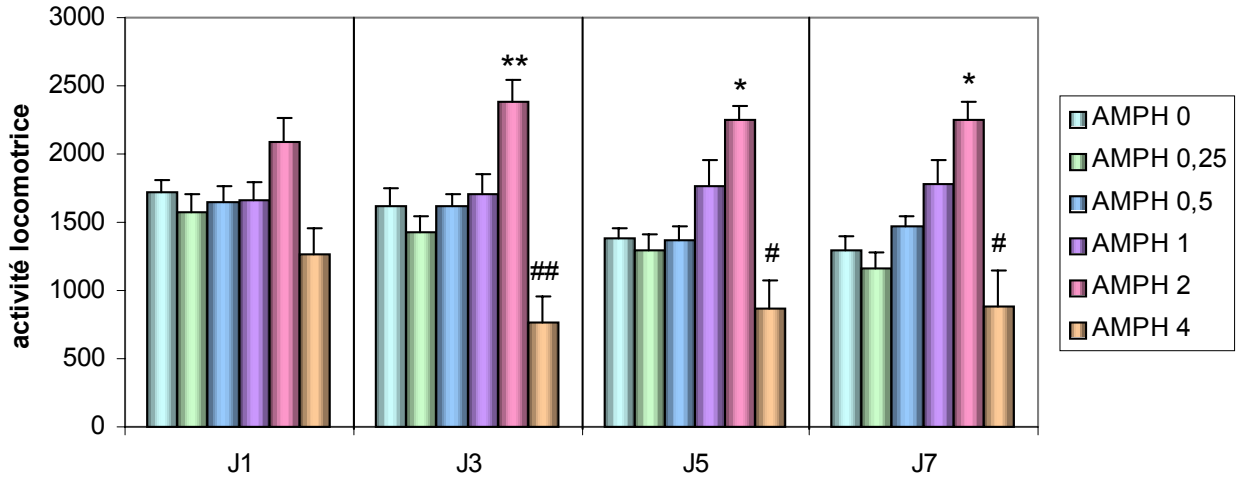


Figure 15.2 : Effet de la *d*-amphétamine sur l'activité locomotrice. Moyenne (± erreur type) du nombre de mouvements total (sur 30 minutes) pour les 4 jours de conditionnement sous *d*-amphétamine. * : $p<0,05$ et ** : $p<0,01$ par rapport au groupe AMPH 4 le même jour et # : $p<0,05$ et ## : $p<0,01$ par rapport au groupe AMPH 4 à J1. *Globalement, l'administration de d-amphétamine affecte l'activité locomotrice des animaux de façon dose-dépendante, produisant une augmentation de l'activité locomotrice à 2 mg/kg et une diminution de l'activité locomotrice à 4 mg/kg. L'effet obtenu à 4 mg/kg (diminution de l'activité locomotrice) est accentué entre la première injection (J1) et la deuxième (J3).*

Test

La figue 15.3 représente les résultats obtenus lors du test sous la forme d'indice de préférence. Le groupe témoin (AMPH 0) présente un indice de préférence proche de 0 (40 ± 33 ; comparable à celui obtenu lors du pré-conditionnement), ce qui traduit une absence de préférence. Par contre, les autres groupes présentent des indices de préférence assez importants, indiquant que ces groupes présentent une préférence pour le compartiment associé à l'amphétamine. De plus, cette préférence est dépendante de la concentration utilisée, avec un effet maximal à la concentration de 2 mg/kg. Cette description des données est confirmée par l'ANOVA ($F_{5,58}=4,98$, $p<0,001$). L'analyse post-hoc indique que les groupes AMPH 1, AMPH 2 et AMPH 4 différent du groupe AMPH 0 ($p<0,05$, $p<0,001$ et $p<0,05$, respectivement). De plus le groupe AMPH 2 diffère des groupes AMPH 0,25 et AMPH 0,5 ($p<0,05$ et $p=0,06$).

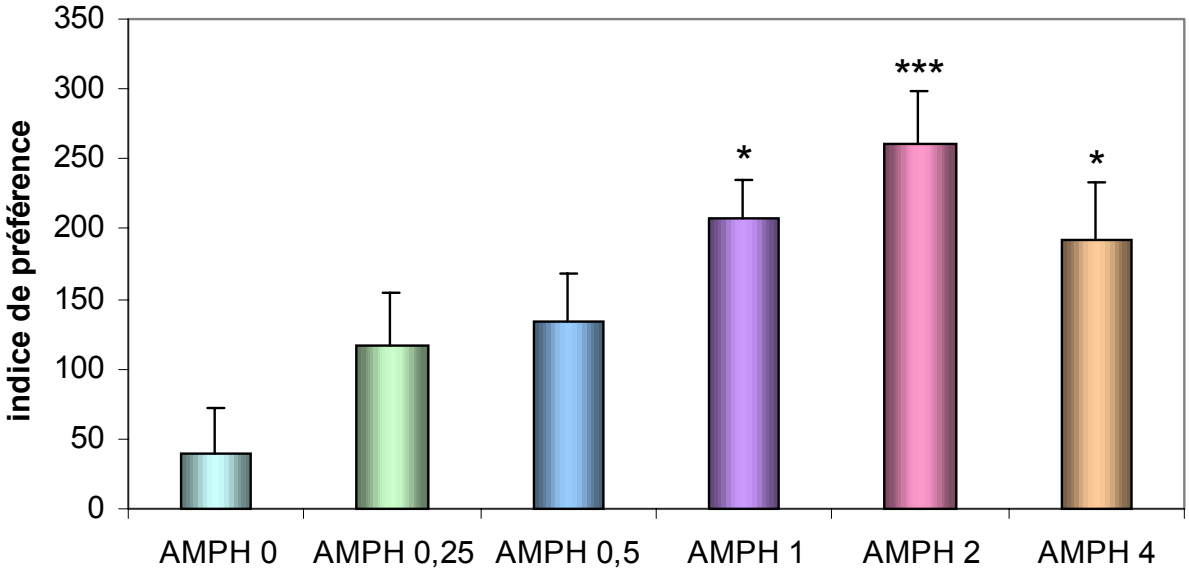


Figure 15.3 : Effet de la *d*-amphétamine sur la préférence de place. Moyenne (± erreur type) de l'indice de préférence. * : $p<0,05$ et *** : $p<0,001$ par rapport au groupe AMPH 0. *L'administration de d-amphétamine induit une préférence de place de façon dose-dépendante.*

Discussion

Les résultats de cette expérience montrent que la *d*-amphétamine induit une préférence de place dont l'amplitude dépend de la concentration utilisée (effet dose-dépendant avec un maximum à 2 mg/kg). Par ailleurs, l'administration de *d*-amphétamine modifie l'activité locomotrice des animaux et les effets produits dépendent des concentrations utilisées : absence d'effet de 0,25 à 1 mg/kg, hyperactivité à 2 mg/kg et hypoactivité à 4 mg/kg.

Par rapport à un autre paradigme utilisé pour mesurer les propriétés récompensantes de drogues (l'auto-administration), celui de préférence de place conditionnée présente plusieurs avantages (pour revue, voir Bardo et Bevins, 2000). L'un de ces avantages réside dans la possibilité d'évaluer de façon concomitante, l'activité locomotrice et la préférence de place. Bien que le matériel et la méthode soient légèrement différents de ceux utilisés dans l'expérience précédente, les résultats obtenus sont globalement similaires et présentent l'avantage d'utiliser une gamme de concentration plus étendue. Ainsi, à des concentrations faibles ou modérées (0,25 et 1 mg/kg ; terminologie selon Grilly et Loveland, 2001), l'amphétamine semble dépourvue d'effet sur l'activité locomotrice au cours des quatre jours de test. A concentration élevée (2 mg/kg), l'amphétamine stimule l'activité locomotrice. Enfin, à une concentration très élevée (4 mg/kg), on observe une diminution de la locomotion qui est vraisemblablement imputable à l'induction de stéréotypies classiquement obtenues à cette concentration (par exemple, voir Kuczenski et Segal, 1999). Cet effet de l'amphétamine à la concentration de 4 mg/kg pouvant être attribué à son action au niveau du noyau caudé-putamen (Kelly et coll., 1975 ; Sharp et coll., 1987 ; Staton et Solomon, 1984), cette concentration ne sera pas utilisée par la suite (expérience 16). Dans l'ensemble, nos résultats sont donc en accord avec la littérature (pour revue, voir Grilly et Loveland, 2001), et ce malgré des effets peu marqués pour les concentrations de 0,25 à 1 mg/kg (pour discussion, voir l'expérience précédente).

En accord avec d'autres études, l'amphétamine induit une préférence de place (pour revue, voir Tzschentke, 1998), dont l'amplitude de la réponse dépend de la concentration utilisée. Même si le paradigme de préférence de place a souvent été décrite comme fournissant une réponse de type tout ou rien (Costello et coll., 1989 ; gamme utilisée : 0 ; 0,625 ; 1,25 ; 1,5 ; 2,5 et 5 mg/kg ; Spyraki et coll., 1982 ; gamme utilisée : 0 ; 0,5 ; 1 et 5 mg/kg), il existe

quelques études montrant que l'amphétamine induit une augmentation dose-dépendante de la préférence de place (Bespalov, 1996 ; gamme utilisée : 0 ; 1 ; 1,5 et 2 mg/kg ; Hoffman et Beninger, 1988 ; gamme utilisée : 0 ; 0,01 ; 0,1 ; 1 ; 2 et 4 mg/kg ; Bardo et coll., 1999 ; gamme utilisée : 0 ; 0,1 ; 0,3 ; 1 et 3 mg/kg ; Khroyan et coll., 1998 ; gamme utilisée : 0 ; 0,1 ; 0,5 ; 1 ; 5 et 10 mg/kg). Dans une méta-analyse regroupant 55 articles dont 45 sur l'amphétamine, il a été montré que la portion graduée de la courbe dose-réponse à l'amphétamine se situait entre 0,1 et 0,3 mg/kg (Bardo et coll., 1995), expliquant ainsi l'absence de gradation dans les études se situant au-delà de cette gamme (des doses supérieures produisant des effets asymptotiques). Sur la base de ces résultats, il a été proposé que contrairement au paradigme d'auto-administration qui produit des courbes dose-réponse en U inversé, le paradigme de préférence de place présente l'avantage de donner des courbes monophasiques (Bardo et Bevins, 2000). Nos résultats confirment non seulement l'existence d'une gradation dans les effets de la *d*-amphétamine dans un paradigme de préférence de place, mais montrent également que cette gradation peut être observée dans une gamme de concentration assez étendue (0,25 - 2 mg/kg), suggérant que nos conditions expérimentales sont particulièrement adaptées pour mettre en évidence ce phénomène. De plus, la diminution de réponse amorcée à la concentration de 4 mg/kg suggère l'existence d'une courbe en U inversé, et réfutent donc l'idée d'une courbe dose-réponse monophasique. Une chute de l'amplitude de la réponse à très forte concentration a déjà été observée (Costello et coll., 1989, mais Khroyan et coll., 1998 ; Spyraki et coll., 1982) et a été attribuée à la composante aversive de l'amphétamine. Bien que les propriétés aversives de l'amphétamine aient été décrites essentiellement dans une situation d'aversion gustative conditionnée et ce à des concentrations produisant une préférence de place (Hoffman et Beninger, 1988 ; Turenne et coll., 1996), il a déjà été montré que les effets aversifs de l'amphétamine pouvaient affecter la préférence de place induite par cette même drogue (Lett, 1988). Cette diminution de la préférence de place pourrait donc résulter d'une compétition entre les propriétés récompensantes et les propriétés aversives de l'amphétamine. Nos résultats (hypoactivité locomotrice) montrent qu'à la concentration de 4 mg/kg, l'amphétamine présente une action préférentielle au niveau du noyau caudé-putamen, structure cérébrale dont la lésion facilite la préférence de place induite par amphétamine (Hiroi et White, 1991a). Une implication du noyau caudé-putamen dans les propriétés aversives de l'amphétamine n'a cependant pas pu être mis en évidence (Carr et White, 1986).

Bien que les effets récompensants (préférence de place) et moteurs (hyperactivité) de l'amphétamine impliquent tous deux l'activité dopaminergique au niveau du noyau accumbens (voir introduction du chapitre), nos résultats montrent que l'action récompensante de la *d*-amphétamine semble être dissociable de ces effets moteurs (mesurés lors du conditionnement). Ainsi, une préférence de place a pu être obtenue avec plusieurs concentrations d'amphétamine ayant conduit à des profils d'activité locomotrice aussi divers qu'une très faible hyperactivité (1 mg/kg), une hyperactivité marquée (2 mg/kg), mais également une hypoactivité (4 mg/kg). Un effet similaire a déjà été décrit après infusion d'amphétamine directement dans le noyau accumbens, la dose d'amphétamine la moins efficace en ce qui concerne la préférence de place produisant l'effet le plus fort sur l'activité locomotrice et inversement (Schildein et coll., 1998). Il a déjà été démontré que la préférence de place induite par amphétamine ne dépendait pas de son action stimulante sur la locomotion (Carr et coll., 1988). D'autres résultats viennent appuyer cette démonstration et confirmer l'existence d'une dissociation entre l'activité locomotrice et la préférence de place. Ainsi, alors que divers traitements pharmacologiques diminuent l'activité locomotrice induite par amphétamine, ils n'affectent pas ses propriétés récompensantes (préférence de place ; Di Scala et coll., 1985 ; Hiroi et White, 1991a). A l'inverse, il existe divers constats de lésions cérébrales supprimant la préférence de place induite par amphétamine sans en affecter la capacité à stimuler la locomotion (Olmstead et Franklin, 1994 ; Ventura et coll., 2003). Ces différentes données montrent donc que seule une très faible corrélation existe entre l'expression de ces effets comportementaux, suggérant l'implication de substrats distincts. Comme mentionné en introduction de ce chapitre, l'activité locomotrice et la préférence de place induites par amphétamine dépendent toutes deux de l'activité dopaminergique au sein du noyau accumbens, mais cette dissociation pourrait résulter de l'implication différentielle entre les parties *shell* et *core* du noyau accumbens. Une double dissociation entre ces deux structures a en effet été récemment décrite en regard de la locomotion et de la préférence de place (Sellings et Clarke, 2003). Néanmoins, bien qu'une préférence de place ait pu être obtenue suite à l'infusion d'amphétamine directement dans la partie *shell* du noyau accumbens (Schildein et coll., 1998), des résultats contradictoires ont également été obtenus (Liao et coll., 2000), les auteurs de cette dernière étude attribuant un rôle non pas à la partie *shell* du noyau accumbens, mais à sa partie *core*. Au regard de ces contradictions, il est également possible d'attribuer cette dissociation à des cibles neuronales différentes (au niveau

postsynaptique) ou encore à l'interaction entre la dopamine et des afférences (glutamatergiques) différentes, et donc au recrutement de circuits distincts.

En résumé, les résultats de cette expérience montrent que la d-amphétamine induit une préférence de place de façon dose-dépendante. Sur la base de l'ensemble des résultats (préférence de place et activité locomotrice), les concentrations de 0,5 ; 1 et 2 mg/kg ont été choisies pour l'expérience suivante qui vise à tester les effets de la lésion du cortex entorhinal sur la préférence de place induite par l'amphétamine.

EXPERIENCE 16 : EFFET DE LA LESION DU CORTEX ENTORHINAL SUR LA PREFERENCE DE PLACE INDUITE PAR LA *D*-AMPHETAMINE.

Introduction

Le but de cette expérience est d'évaluer les effets de la lésion du cortex entorhinal sur la préférence de place induite par la *d*-amphétamine. Les raisons qui ont motivé cette expérience sont les mêmes que pour les expériences 13 et 14 et ont déjà été exposées dans l'introduction de ce chapitre (mesure indirecte de l'activité dopaminergique méso-accumbens). Cependant, au regard des résultats de l'expérience précédente, à savoir de l'existence d'une dissociation entre la préférence de place et l'hyperactivité locomotrice toutes deux induites par la *d*-amphétamine, et sur la base de l'hypothèse exposée dans l'introduction de ce chapitre, deux cas de figures peuvent être envisagés. Soit la lésion du cortex entorhinal affecte la préférence de place induite par amphétamine, et dans ce cas, il semble raisonnable d'attribuer cet effet (commun avec l'augmentation de l'hyperactivité locomotrice) à une augmentation de la libération de dopamine induite par la *d*-amphétamine. Soit la lésion du cortex entorhinal n'affecte pas la préférence de place, et dans ce cas, une modification de la libération de dopamine (effet présynaptique) peut être écartée au profit d'une modification de l'activité dopaminergique méso-accumbens à un niveau postsynaptique.

Matériel et méthodes

Animaux

Cent vingt rats sont utilisés dans cette expérience, conduite en deux réplications. Ces rats proviennent d'une expérience de réponse émotionnelle conditionnée non présentée dans ce mémoire (mais similaire à l'expérience 3), à l'issue de laquelle ils ont été déplacés dans une animalerie attenante à une autre salle d'expérience. Ils ont alors accès à la nourriture et à la boisson *ad libitum* pendant 5 jours avant le début de cette expérience ; leur poids moyen étant alors de 370 grammes. Le matériel et le protocole sont identiques à ceux de l'expérience précédente, excepté que seuls les concentrations de 0 ; 0,5 ; 1 et 2 mg/kg sont utilisés (n=12-18 par groupe).

Chirurgie

L'opération a lieu une semaine après l'arrivée des animaux au laboratoire, selon la méthode décrite dans l'expérience 3, excepté pour les points suivants. Un angle médiolatéral de 10° est imposé au descendeur et les coordonnées ont été modifiées en conséquence : A-P : -8,2 mm ; M-L : ±3,5 mm ; D-V : -7,2 ; -6,6 et -6 mm par rapport au Bregma. Au niveau de chacun de ces sites, 0,2 ; 0,2 et 0,3 µl de NMDA sont respectivement injectés à une vitesse de 0,2 µl/min. Après chaque injection, la canule est maintenue en place pendant 2, 2 et 3 minutes respectivement afin de permettre la diffusion du NMDA.

Soixante douze rats ont subit une lésion du cortex entorhinal (ENTO) et 48 rats ont servi de témoins pseudo-opérés (PSEUDO).

Analyse des données

Pour la phase de pré-conditionnement, le nombre total de mouvements (somme des mouvements dans les trois compartiments) fait l'objet d'une analyse de variance (ANOVA) à un facteur (facteur Lésion à deux niveaux [PSEUDO ; ENTO]). De plus, l'indice de préférence fait l'objet d'une analyse de variance (ANOVA) à deux facteurs (facteur Lésion à deux niveaux [PSEUDO ; ENTO] et facteur Traitement à quatre niveaux [AMPH 0 ; AMPH 0,5 ; AMPH 1 ; AMPH 2]).

Pour la phase de conditionnement, l'activité locomotrice totale (sur les 30 minutes) pendant les 4 jours de conditionnement avec la substance active (J1, J3, J5 et J7) fait l'objet d'une ANOVA à trois facteurs (facteur Lésion à deux niveaux [PSEUDO ; ENTO], facteur Traitement à quatre niveaux [AMPH 0 ; AMPH 0,5 ; AMPH 1 ; AMPH 2] et facteur Jour à 4 niveaux).

Pour la phase de test, l'indice de préférence fait l'objet d'une analyse de variance (ANOVA) à deux facteurs (facteur Lésion à deux niveaux [PSEUDO ; ENTO] et facteur Traitement à quatre niveaux [AMPH 0 ; AMPH 0,5 ; AMPH 1 ; AMPH 2]).

Les différences entre les groupes sont établies par des comparaisons *post-hoc* avec le test de Newman-Keuls.

Résultats

Vérifications histologiques

Vingt et un rats ont été écartés de l'analyse statistique des résultats sur la base des critères suivants : atteinte importante du gyrus denté et/ou du champ CA1 de l'hippocampe (n=6), atteinte du cortex périrhinal (n=3), atteinte unilatérale (n=4), atteinte insuffisante du cortex entorhinal (n=8). De plus, un rat du groupe PSEUDO-AMPH 0 a été écarté de l'analyse pour problème d'injection. A l'issue de la vérification histologique, les effectifs de chacun des groupes sont les suivants : PSEUDO-AMPH 0 (n=11), PSEUDO-AMPH 0,5 (n=12), PSEUDO-AMPH 1 (n=12), PSEUDO-AMPH 2 (n=12), ENTO-AMPH 0 (n=11), ENTO-AMPH 0,5 (n=13), ENTO-AMPH 1 (n=16) et ENTO-AMPH 2 (n=11).

Comme l'illustre la figure 16.1 la lésion s'étend des plans -6,3 mm à -8,3 mm par rapport au Bregma. La lésion affecte préférentiellement la partie médiane du cortex entorhinal, mais la partie latérale est également touchée. Les couches superficielles sont systématiquement touchées. Il faut également noter une atteinte subiculaire ventrale et postérieure dans certains cas. Aucune atteinte n'est observée chez les animaux PSEUDO.

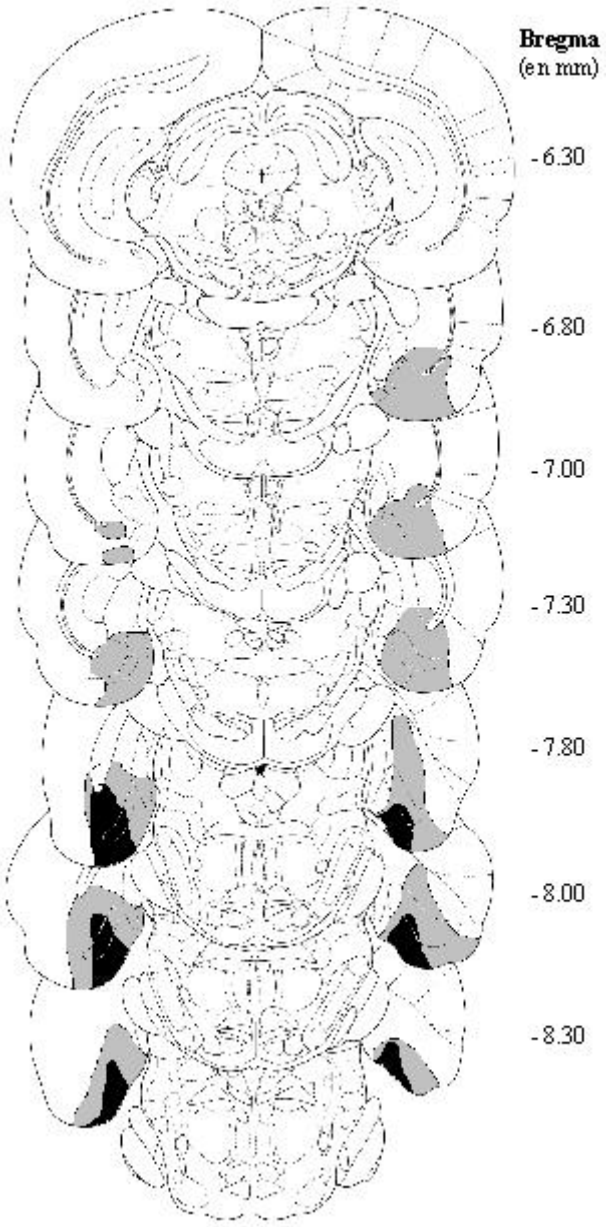


Figure 16.1 : Représentation schématique de la plus petite (en noir) et de la plus grande (en gris) étendue des lésions du cortex entorhinal. Les coordonnées des sections frontales correspondent à la distance par rapport au Bregma (d'après Paxinos et Watson, 1998).

Pré-conditionnement

Les animaux PSEUDO et ENTO semblent présenter des activité locomotrices comparables lorsqu'ils sont placés pour la première fois dans le dispositif expérimental, comme l'indique le nombre total de mouvements (1048 ± 28 et 1086 ± 61, respectivement). Cette description est confirmée par l'ANOVA ($F(1,96)=0,31$, ns).

En moyenne, les animaux de chacun des 8 groupes (déterminés à priori) passent autant de temps dans le compartiment qui sera associé au composé actif que dans le compartiment qui sera associé au solvant, l'indice de préférence étant de ce fait proche de 0 (-15,17 ± 22,99 pour tous les groupes confondus). Cette absence de différence entre les groupes est confirmée par l'ANOVA qui ne révèle aucun effet des facteurs Lésion ($F(1,90)=0,13$, ns), Traitement ($F(3,90)=0,22$, ns), ni de l'interaction entre ces facteurs ($F(3,90)=0,30$, ns).

Conditionnement

La figure 16.2 représente l'activité locomotrice totale lors des quatre jours de conditionnement sous la substance active (J1, J3, J5 et J7). Globalement, le groupe AMPH 2 présente une activité supérieure à celle des autres groupes chez les animaux PSEUDO et les animaux ENTO. Le groupe AMPH 1 présente également une activité supérieure aux groupes AMPH 0 et AMPH 0,5 mais uniquement chez les animaux ENTO. Cette description des données est confirmée par l'ANOVA qui révèle un effet des facteurs Traitement ($F(3,90)=18,91$, $p<0,0001$), Jour ($F(3,270)=15,83$, $p<0,0001$), ainsi qu'une tendance sur l'interaction entre ces deux facteurs ($F(9,270)=1,81$, $p=0,07$), mais pas du facteur Lésion ($F(1,90)=0,51$, ns), ni d'aucune interaction impliquant ce facteur. Bien que l'interaction de deuxième ordre ne soit pas significatif ($F(9,270)=0,85$, ns), les effets simples de l'interaction entre les facteurs Traitement et Jour ont été analysés séparément pour chacune des conditions lésionnelles, les effets simples de l'interaction entre les facteurs Lésion et Jour analysés séparément pour chacune des conditions de traitement n'ayant révélé aucun effet de la lésion. L'ANOVA pour le groupe PSEUDO révèle un effet des facteurs Traitement ($F(3,43)=9,25$, $p<0,0001$), Jour ($F(3,129)=9,92$, $p<0,0001$), mais pas de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(9,129)=1,07$, ns). L'analyse *post-hoc* sur le facteur Traitement indique que le groupe AMPH 2 présente une activité locomotrice supérieure à celle de tous les groupes ($p<0,01$ au

moins). L'analyse *post-hoc* de comparaisons multiples entre groupes indique que pour le groupe AMPH 0, l'activité locomotrice au jour J1 est supérieur à celle des jours J5 et J7 ($p<0,05$ au moins) et que celle au jour J3 est supérieure à celle au jour J7 ($p<0,05$). L'ANOVA pour le groupe ENTO révèle un effet des facteurs Traitement ($F(3,47)=10,88$, $p<0,0001$), Jour ($F(3,141)=7,30$, $p<0,001$), mais pas de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(9,141)=1,55$, ns). L'analyse *post-hoc* sur le facteur Traitement indique que les groupes AMPH 1 et AMPH 2 présentent une activité locomotrice supérieure à celle des groupes AMPH 0 et AMPH 0,5 ($p<0,01$ au moins). L'analyse *post-hoc* de comparaisons multiples entre groupes indique que pour le groupe AMPH 0, l'activité locomotrice au jour J1 est supérieur à celle du jour J5 ($p<0,05$) et que pour le groupe AMPH 0,25, celle du jour J1 est supérieure à celle des jours J3, J5 et J7 ($p<0,05$ dans tous les cas).

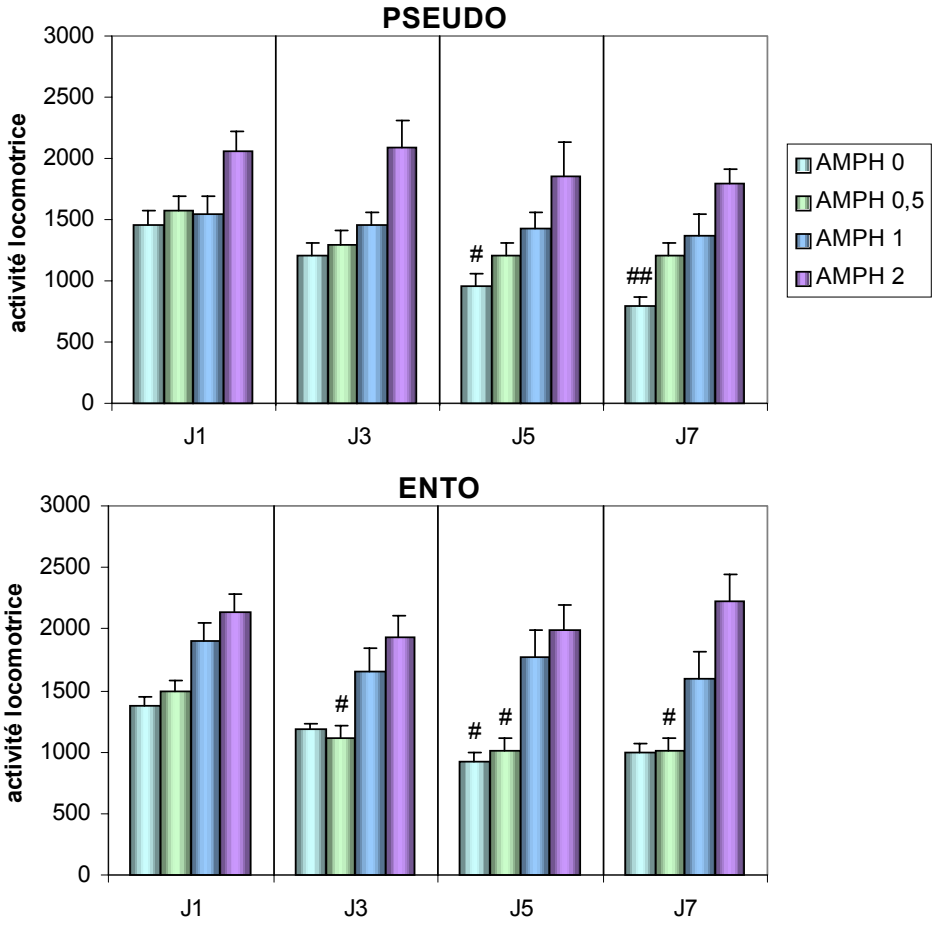


Figure 16.2 : Effet de la lésion du cortex entorhinal sur l'activité locomotrice induite par la *d*-amphétamine. Moyenne (± erreur type) du nombre de mouvements total (sur 30 minutes) pour les 4 jours de conditionnement sous *d*-amphétamine. # : $p<0,05$ et ## : $p<0,01$ par rapport au même groupe de traitement à J1. *Globalement, l'administration de d-amphétamine augmente l'activité locomotrice des animaux de façon dose-dépendante, cet effet étant plus marqué chez les animaux ENTO.*

Test

La figue 16.3 représente les résultats obtenus lors du test sous la forme d'indice de préférence. Le groupe témoin (AMPH 0) présente un indice de préférence proche de 0 (48 ± 36 et 29 ± 39 pour les animaux PSEUDO et ENTO, respectivement) ; ce résultat, comparable au résultat obtenu lors du pré-conditionnement, traduit une absence de préférence. Par contre, les autres groupes présentent des indices de préférence assez importants, indiquant que ces groupes présentent une préférence pour le compartiment associé à la *d*-amphétamine. De plus, cette préférence est dépendante de la concentration utilisée, avec un effet maximal à la concentration de 2 mg/kg. Les animaux PSEUDO et ENTO ne diffèrent pas entre eux. Cette description des données est confirmée par l'ANOVA qui révèle un effet du facteur Traitement ($F(3,90)=11,12$, $p<0,0001$), mais pas du facteur Lésion ($F1,90)=0,04$, ns), ni de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(3,90)=0,36$, ns). L'analyse *post-hoc* sur le facteur Traitement indique que les groupes AMPH 0,5, AMPH 1 et AMPH 2 différent du groupe AMPH 0 ($p<0,05$, $p<0,01$ et $p<0,001$, respectivement). De plus le groupe AMPH 2 diffère des groupes AMPH 0,5 et AMPH 1 ($p<0,01$ dans les deux cas). L'analyse *post-hoc* de comparaisons multiples entre groupes indique que chez les animaux PSEUDO, le groupe AMPH 2 diffère du groupe AMPH 0 ($p<0,01$) et que chez les animaux ENTO, le groupe AMPH 2 diffère du groupe AMPH 0 ($p<0,001$), et tend à différer des groupes AMPH 0,5 et AMPH 1 ($p=0,08$ et $p=0,06$, respectivement).

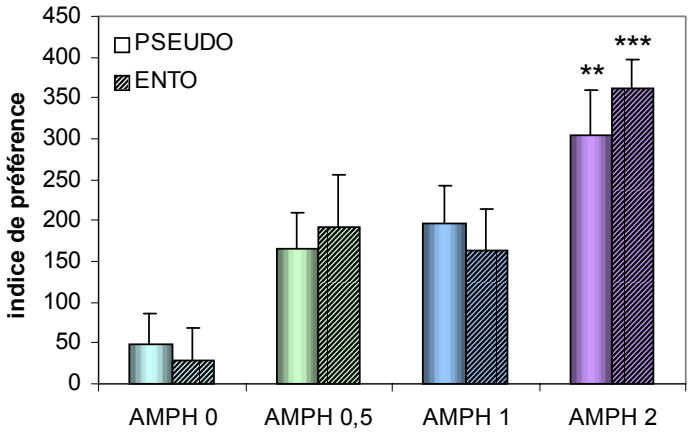


Figure 16.3 : Effet de la lésion du cortex entorhinal sur la préférence de place induite par la *d*-amphétamine. Moyenne (± erreur type) de l'indice de préférence. ** : $p<0,01$ et *** : $p<0,001$ par rapport au groupe AMPH 0 de la même condition chirurgicale. *L'administration de d-amphétamine induit une préférence de place de façon dose-dépendante. L'amplitude de cette préférence de place est comparable chez les animaux PSEUDO et ENTO.*

Discussion

Les résultats de cette expérience montrent que la *d*-amphétamine induit une préférence de place dont l'amplitude dépend de la concentration utilisée (effet dose dépendant avec un maximum à 2 mg/kg), et ce aussi bien chez les animaux PSEUDO que ENTO. Par ailleurs, l'administration de *d*-amphétamine augmente l'activité locomotrice des animaux de façon dose dépendante, cet effet étant plus marqué chez les animaux lésés (hyperactivité obtenue à partir d'une concentration plus faible, 1 mg/kg, chez les animaux ENTO).

Il est important de noter que ces résultats (locomotion) viennent confirmer ceux obtenus précédemment (expériences 14 et 15 ; pour discussion, voir également ces expériences). Ainsi, en accord avec l'expérience précédente (mais également l'expérience 14), l'amphétamine à la concentration de 2 mg/kg produit une hyperactivité locomotrice. Cet effet (à 2 mg/kg) ou l'absence d'effet (à 0,5 mg/kg) ne sont pas affectés par la lésion du cortex entorhinal, comme nous l'avions observé dans l'expérience 14. De plus, nous retrouvons le résultat de l'expérience 14, à savoir que la lésion du cortex entorhinal augmente l'activité locomotrice induite par l'administration d'amphétamine à la concentration de 1 mg/kg. Ce dernier point permet non seulement de confirmer le précédent résultat, mais également d'attester de l'efficacité de la lésion. Il est d'ailleurs intéressant de remarquer que dans cette expérience, l'effet de la lésion est observé malgré un délai postopératoire inférieur à celui de l'expérience 14 (voir discussion de l'expérience 14).

La lésion du cortex entorhinal n'affecte pas la préférence de place induite par la *d*-amphétamine, cette absence d'effet venant s'ajouter à celles décrites avec des lésions du cortex préfrontal (pour revue, voir Bardo, 1998), du cortex endopiriforme (Hiroi et White, 1991b), de l'hippocampe ventral ou de la fimbria-fornix (Hiroi et White, 1991b), des noyaux basolatéral et central de l'amygdale (Hiroi et White, 1991b). L'implication du système glutamatergique dans la préférence de place induite par amphétamine a pourtant été démontrée (pour une revue sur les autres systèmes de neurotransmission impliqués dans la préférence de place, voir Bardo, 1998), cette dernière étant bloquée par un inhibiteur de la libération de glutamate (Tzschentke et Schmidt, 1998 ; effet sur l'acquisition), par des antagonistes des récepteurs au glutamate, qu'ils soient du type AMPA (Tzschentke et Schmidt, 1997 ; effet sur l'expression) ou NMDA (Bespalov, 1996 ; effet sur l'expression,

mais Hoffman, 1994 ; pas d'effet sur l'acquisition). Ces effets d'antagonistes glutamatergiques ont été décrits suite à des administrations systémiques, mais aussi suite à l'infusion directement dans le noyau accumbens (Layer et coll., 1993 ; effet sur l'acquisition et l'expression), l'afférence glutamatergique impliquée étant celle en provenance du noyau latéral de l'amygdale (Hiroi et White, 1991b ; lésion avant l'acquisition et avant l'expression). Grâce à l'utilisation d'une technique d'inactivation réversible (bupivacaine), l'implication de l'amygdale a pu être démontrée dans l'acquisition, la consolidation et l'expression de la préférence de place induite par l'amphétamine (Hsu et coll., 2002). Ainsi, la préférence de place induite par l'amphétamine (pour revue, voir Bardo, 1998) dépendrait d'une interaction entre les afférences de l'amygdale et de l'aire tegmentale ventrale au sein du noyau accumbens, ce dernier projetant ensuite vers le pallidum ventral (Hiroi et White, 1993), lui-même innervant le noyau tegmental pédunculopontin (Olmstead et Franklin, 1994).

En résumé, les résultats de cette expérience montrent que la lésion du cortex entorhinal n'affecte pas la préférence de place induite par la d-amphétamine, alors qu'elle augmente l'activité locomotrice induite par la d-amphétamine, ce dernier résultat venant confirmer la dissociation décrite précédemment (expérience 15) entre l'activité locomotrice et la préférence de place. La transmission dopaminergique étant impliquée dans ces deux comportements, il semble raisonnable d'attribuer la dissociation observée (effet sur la locomotion, mais pas sur la préférence de place) à une altération du fonctionnement du système méso-accumbens au niveau de l'intégration postsynaptique.

EXPERIENCE 17 : EFFET DE LA LESION DU CORTEX ENTORHINAL SUR L'EXPRESSION DU GENE *C-FOS* INDUITE PAR L'HALOPERIDOL ET L'OLANZAPINE

Introduction

Le but de cette expérience est d'évaluer les effets de la lésion du cortex entorhinal sur l'activité neuronale (au sein du noyau accumbens) mesurée par l'expression du gène *c-fos* induite par le blocage des récepteurs D_2 (cf. introduction du chapitre). Pour augmenter l'expression du gène *c-fos*, nous avons utilisé un antipsychotique typique, l'halopéridol, mais également un antipsychotique atypique, l'olanzapine, au vu de la capacité supérieure de ce dernier à compenser le déficit d'inhibition latente induit par la lésion du cortex entorhinal (Coutureau et coll., 2000b, mais Yee et coll., 1995a). Nous avons utilisé une technique d'hybridation *in situ* qui permet de détecter l'expression d'un ARNm dans un tissu. Le principe de la technique est basé sur l'hybridation spécifique d'une sonde (sonde anti-sens marquée avec isotope radioactif, le ^{35}S) avec sa cible complémentaire d'ARNm : ARNm *c-fos* dans le cas présent. Cette technique permettant une localisation concomitante dans plusieurs structures cérébrales, nous avons étudié les effets de la lésion du cortex entorhinal sur l'expression du gène *c-fos* induite par l'halopéridol et l'olanzapine dans différentes structures cérébrales (le striatum, l'amygdale, le septum, le cortex cingulaire et l'hippocampe) présentant des connexions anatomiques avec le cortex entorhinal (Totterdell et Meredith, 1997 ; Pitkanen et coll., 2000 ; Leranth et coll., 1999 ; Insausti et coll., 1997 ; Witter et coll., 2000b, respectivement), ces structures étant également des cibles du système dopaminergique mésencéphalique (Swanson, 1982).

Matériel et méthodes

Animaux

Trente trois rats sont utilisés dans cette expérience. L'opération chirurgicale a lieu selon la méthode décrite dans l'expérience 3, 20 rats subissant une lésion du cortex entorhinal (ENTO) et 13 rats servant de témoins pseudo-opérés (PSEUDO).

Traitement pharmacologique

Afin de minimiser l'induction de *c-fos* par le stress, les animaux sont manipulés, à raison de quelques minutes par jour, pendant trois jours avant l'administration des composés pharmacologiques. L'halopéridol (Sigma ; dans de l'acide tartrique) et l'olanzapine (Lilly, USA ; dans de l'acide lactique) sont dissous de façon à obtenir des concentrations de 1 mg/kg et 10 mg/kg, respectivement. Les deux composés ainsi que leur solvant sont administrés par voie intrapéritonéale à raison de 1 ml/kg (pour l'halopéridol) et 5 ml/kg (pour l'olanzapine) et ce 45 minutes avant le sacrifice des animaux.

Sacrifice et préparation des coupes

Les animaux sont euthanasiés par une administration intrapéritonéale d'une dose létale de pentobarbital (120 mg/kg). La cage thoracique est alors ouverte de manière à bien dégager le système cardio-vasculaire. Après mise en place d'un clamp sur l'aorte dorsale et incision de l'oreillette droite, les animaux sont perfusés par voie intracardiaque (*via* le ventricule gauche) avec 60 ml de NaCl (0,9 %, 4°C), puis avec 240 ml de fixateur (paraformaldéhyde 1% dans du tampon phosphate 0,1 M, 4°C). Les rats sont alors décapités et leur cerveau délicatement prélevé puis post-fixé par immersion dans le fixateur pendant 1 heure. Les cerveaux sont ensuite transférés dans une solution cryoprotectrice (saccharose à 30%) pour une durée de 24 heures. Ils sont ensuite congelés par immersion dans de l'isopentane refroidit à -40°C par de la carboglace, puis stockés à -80°C.

Des coupes frontales de 10 µm sont réalisées à l'aide d'un cryotome à 21°C et montées sur des lames gélatinées. Pour l'hybridation *in situ*, 3 coupes sériées sont récupérées à chacun des niveaux suivant : +4,2 mm, +1,6 mm et -2,8 mm par rapport au Bregma (Paxinos et Watson, 1998). Pour le contrôle histologique de l'étendue de la lésion, une coupe sur 5 est prélevée au niveau du cortex entorhinal (de -6,3 mm à -8,3 mm par rapport au Bregma).

Hybridation *in situ*

Les coupes sont hybridées avec une sonde ARN marquée par un isotope radioactif ([^{35}S]uridine triphosphate) selon la technique utilisée par Thiriet et collaborateurs (Thiriet et coll., 1998). La sonde est obtenue à partir de l'ADN complémentaire humain du gène *c-fos*.

Cet ADN est placé dans le plasmide pGEM4 qui possède de part et d'autre de la cassette de clonage les sites T3, T7 ou SP6 nécessaires à la transcription en ARNm. La composition des différentes solutions utilisées est détaillée en annexe 3a.

Afin de vérifier la spécificité du marquage, un contrôle avec une sonde sens a été effectué. La transcription de cette sonde est catalysée par la RNA polymérase T7 et les autres étapes sont identiques à celles décrites pour la sonde anti-sens. Aucun marquage n'est détecté dans ces conditions.

Marquage et préparation de la sonde

Le marquage est réalisé avec du matériel stérile et, hormis les périodes d'incubation, le travail est effectué sur de la glace (4°C).

Transcription et digestion : La transcription de la sonde anti-sens est catalysée par la RNA polymérase SP6. La réaction est réalisée à 37°C pendant 2 heures dans le milieu décrit en annexe 3b. Le mélange est ensuite incubé pendant 15 minutes à 37°C en présence de 1 µl de DNAse I – RNAse free afin d'hydrolyser le plasmide.

Extraction et purification de la ribosonde : On ajoute au milieu précédent 6 µl d'ARNt (20 mg/ml), 200 µl de SDS 0,2% et on ajuste le volume à 400 µl avec de l'eau ultra-pure stérile. L'ARN est ensuite purifié par une extraction au phénol/chloroforme. L'ARN est enfin précipité par ajout de 40 µl d'acétate de sodium (3 M, pH 5,2) et de 800 µl d'éthanol absolu. Le culot obtenu après centrifugation (30 min, 12000 g, 4°C) est constitué d'ARN pur (la ribosonde).

Hydrolyse alcaline partielle et obtention de la ribosonde : La ribosonde est réduite en morceaux de petite taille afin de mieux pénétrer et circuler dans les tissus. Pour cela, le culot, repris dans 100 µl d'eau, est incubé 21 min dans de la glace, avec de la soude (100 µl, 0,2 M). Le calcul du temps d'incubation est expliqué en annexe 3c.

Les fragments obtenus sont alors précipités pendant une nuit à -20°C par un mélange de 20 µl d'acétate de sodium (3 M, pH 5,2) et 500 µl d'éthanol à 75% (-20°C). Après centrifugation (10 min à température ambiante), le culot est séché sous cloche puis repris dans 50 µl de DTT 10 mM. L'activité de la sonde est mesurée dans un compteur à scintillation liquide sur un échantillon de 1 µl du mélange auquel on a ajouté du liquide de scintillation.

Hybridation in situ

Pré-traitement des lames : Les lames sont sorties du congélateur (-80°C), immergées dans de l'acétone pendant 3 à 5 min (délipidation) puis séchées à l'air. Elles sont ensuite plongées dans du formaldéhyde à 4% / PBS 1X (fixation) pendant 15 min sous agitation à 4°C, et rincées deux fois 5 min dans du PBS 1X à 4°C. Afin de limiter le marquage non spécifique (interaction électrostatique de l'ARN avec le tissu), on procède à une acétylation. Les coupes sont incubées pendant 5 min sous agitation dans une solution de triéthanolamine (0,1 M, pH 8), à laquelle on ajoute 0,25% d'anhydride acide avant de prolonger l'incubation pendant 10 minutes. Après deux rinçages de 2 min avec du SCC 2X, les coupes sont pré-hybridées sous agitation dans un mélange de formamide 50% / SSC 1X à 60°C, pendant 10 minutes. Les coupes sont enfin déshydratées dans des bains d'éthanol de concentration croissante : 50% (-20°C), 75% (-20°C) et 100%, puis séchées à l'air.

Hybridation : L'hybridation *in situ* est réalisée avec la sonde anti-sens diluée à 50000 dpm/µl dans une solution d'hybridation. On dépose 30 µl de la sonde marquée sur chacune des lames et on recouvre d'une lamelle. Les lames sont incubées, pendant la nuit, à 52°C, dans une boîte contenant un papier filtre humidifié avec du formamide 50% / SSC 4X.

Lavages : Afin d'éliminer la sonde en excès et de diminuer les marquages non spécifiques, on réalise différents lavages : 2 lavages d'une heure dans du formamide 50% / SSC 1X à 55°C, et 2 lavages de 5 min avec du SSC 2X à température ambiante. L'ARN non hybridé est hydrolysé en incubant les lames dans une solution de NTE 1X (10 min à 37°C), à laquelle on ajoute 60 µl de RNAse A (30 min à 37°C). Les coupes sont ensuite lavées par trempage dans du formamide 50% / SSC 2X (2 bains d'une heure à 55°C), puis de SSC 2X (15 min à température ambiante) et enfin avec du SSC 0,1X (15 min à 55°C). Les lames sont ensuite déshydratées par passage dans des bains d'éthanol de concentrations croissantes (cf. précédemment), puis exposées pendant 8 jours sous film Kodak BIOMAX MR dans des cassettes spécialement conçues au laboratoire.

Quantification du niveau d'expression de l'ARNm *c-fos*

Les films autoradiographiques sont numérisés, et l'amplitude du signal est déterminée à l'aide d'un analyseur d'image (Samba, logiciel Autoradiography 3.09). Pour chaque hémisphère, la densité optique (DO) est mesurée dans les régions cérébrales représentées àr la

figure 17.1, et ce sur chacune des 3 coupes sériées disponibles par niveau de coupe et par animal. Afin de corriger les mesures par rapport au bruit de fond, des mesures sont réalisées sur le film à proximité des coupes, et ces valeurs sont soustraites de celle obtenues pour chaque section. Les données ainsi obtenues sont moyennées, fournissant un signal moyen (DOm) pour chaque structure et par animal.

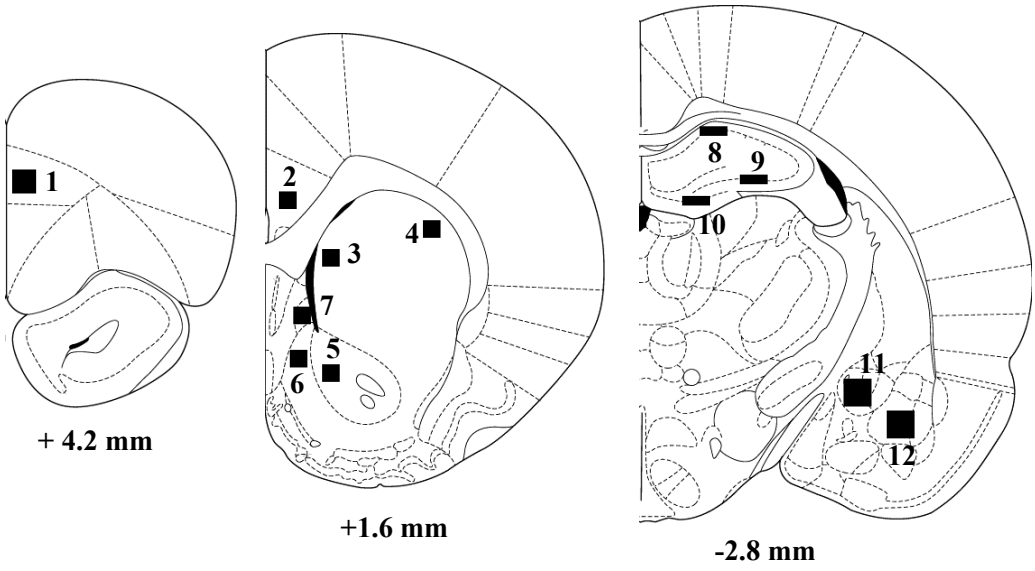


Figure 17.1 : Représentation schématique, sur des planches adaptées de l'atlas stéréotaxique de Paxinos et Watson (Paxinos et Watson, 1998), des zones échantillonnées pour chacune des structures étudiées : cortex cingulaire rostral (1) et caudal (2), noyau caudé-putamen dorsomédian (3) et dorsolatéral (4), noyau accumbens *core* (5) et *shell* (6), septum latéral (7), champs CA1 (8) et CA3 (9) de l'hippocampe, gyrus denté (10), amygdale centrale (11) et latérale (12).

Analyse des données

Pour chaque région cérébrale, la variable DOm fait l'objet d'une analyse de variance (ANOVA) à deux facteurs (facteur Traitement à 3 niveaux [solvant ; halopéridol ; olanzapine] et facteur Lésion à 2 niveaux [PSEUDO ; ENTO]). Les différences entre les groupes sont établies par des comparaisons *post-hoc* avec le test de Newman-Keuls.

Résultats

Vérifications histologiques

Huit rats ont été écartés de l'analyse statistique des résultats sur la base des critères suivants : atteinte importante du gyrus denté et/ou du champ CA1 de l'hippocampe (n=3), atteinte unilatérale (n=3), atteinte insuffisante du cortex entorhinal (n=2). De plus, un rat traité à l'halopéridol a été écarté de l'analyse puisque l'injection n'avait été que partielle. A l'issue de la vérification histologique, les effectifs de chacun des groupes sont les suivants : PSEUDO-solvant[6] (n=5), PSEUDO-halopéridol (n=4), PSEUDO-olanzapine (n=4), ENTO-solvant (n=4), ENTO-halopéridol (n=3) et ENTO-olanzapine (n=4).

Comme l'illustre la figure 17.2 la lésion s'étend des plans -6,3 mm à -8,72 mm par rapport au Bregma. La lésion affecte à la fois la partie médiane et la partie latérale du cortex entorhinal. Les couches superficielles sont systématiquement touchées, les couches profondes étant également atteintes dans la majorité des cas. Il faut également noter une atteinte subiculaire ventrale dans certains cas. Aucune atteinte n'est observée chez les animaux PSEUDO.

[6] Aucune différence de signal n'a été détectée entre les animaux ayant reçu une injection d'acide tartrique et ceux ayant reçu une injection d'acide lactique, par conséquent, les données obtenues après l'administration de ces 2 composés ont été regroupées pour former le groupe "solvant".

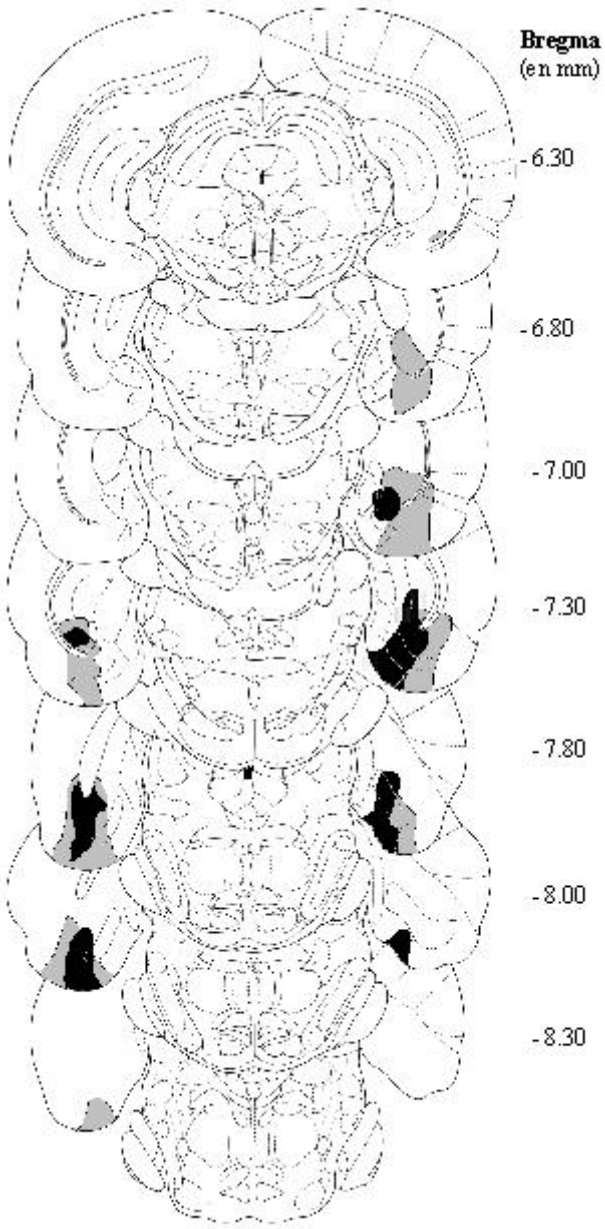


Figure 17.2 : Représentation schématique de la plus petite (en noir) et de la plus grande (en gris) étendue des lésions du cortex entorhinal. Les coordonnées des sections frontales correspondent à la distance par rapport au Bregma (d'après Paxinos et Watson, 1998).

Expression de l'ARNm *c-fos*

Seuls les résultats obtenus dans les régions cérébrales dans lesquelles l'ANOVA a révélé un effet significatif de l'un ou de l'autre des facteurs et/ou de leur interaction sont illustrées à la figure 17.3. Les résultats obtenus dans les autres régions cérébrales étudiées sont indiqués dans le tableau 17.1. L'ensemble de ce données est réssumé dans le tableau 17.2.

Dans toutes les aires cérébrales étudiées, l'injection de solvant produit un patron d'activation similaire entre les animaux PSEUDO et les animaux ENTO, suggérant que la lésion *per se* ne modifie pas l'expression de l'ARNm *c-fos*.

Au niveau du **cortex cingulaire caudal** (figure 17.3), l'halopéridol et l'olanzapine augmentent le niveau d'expression de l'ARNm *c-fos* chez les animaux PSEUDO. Chez les animaux ENTO, seule l'olanzapine augmente l'expression de l'ARNm *c-fos*, mais de façon moins marquée que chez les animaux PSEUDO. Cette description des données est confirmée par l'ANOVA qui révèle un effet des facteurs Traitement ($F(2,16)=28,09$, $p<0,0001$), Lésion ($F(1,16)=22,33$, $p<0,001$), ainsi que de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(2,16)=7,10$, $p<0,01$). L'analyse *post-hoc* sur l'interaction montre que les animaux PSEUDO sous halopéridol et olanzapine diffèrent des animaux PSEUDO sous solvant ($p<0,001$ dans les deux cas), mais aussi des animaux ENTO sous halopéridol et olanzapine, respectivement ($p<0,001$ et $p<0,01$). De plus, les animaux ENTO sous olanzapine diffèrent des animaux ENTO sous solvant ($p<0,05$).

Au niveau du **cortex cingulaire rostral** (tableau 17.1), aucun des deux composés n'affecte l'expression de l'ARNm *c-fos* que ce soit chez les animaux PSEUDO ou les animaux ENTO. Cette description des données est confirmée par l'ANOVA qui ne révèle aucun effet des facteurs Traitement ($F(2,15)=0,51$, ns), Lésion ($F(1,15)=0,60$, ns), ni de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(2,15)=1,25$, ns).

Au niveau du **noyau caudé-putamen dorsomédian** (figure 17.3), les deux composés augmentent le niveau d'expression de l'ARNm *c-fos* chez les animaux PSEUDO. Chez les animaux ENTO, seule l'olanzapine semble induire une augmentation de l'expression de l'ARNm *c-fos*. Cette description des données est confirmée par l'ANOVA qui révèle un effet des facteurs Traitement ($F(2,16)=11,69$, $p<0,001$), Lésion ($F(1,16)=12,11$, $p<0,01$), ainsi que de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(2,16)=4,49$, $p<0,05$). L'analyse *post-hoc* sur

l'interaction montre que les animaux PSEUDO sous halopéridol et olanzapine diffèrent des animaux PSEUDO sous solvant ($p<0,01$ dans les deux cas). De plus, les animaux ENTO sous halopéridol diffèrent des animaux PSEUDO sous halopéridol ($p<0,01$).

Au niveau du **noyau caudé-putamen dorsolatéral** (figure 17.3), les deux composés augmentent le niveau d'expression de l'ARNm *c-fos* chez les animaux PSEUDO, l'effet de l'halopéridol étant plus marqué. Chez les animaux ENTO, les deux composés induisent également l'expression de l'ARNm *c-fos*, mais dans le cas de l'halopéridol, de façon moins marquée que chez les animaux PSEUDO. Cette description des données est confirmée par l'ANOVA qui révèle un effet des facteurs Traitement ($F(2,16)=127,90$, $p<0,0001$), Lésion ($F(1,16)=16,53$, $p<0,001$), ainsi que de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(2,16)=8,76$, $p<0,01$). L'analyse *post-hoc* sur l'interaction montre que les animaux PSEUDO sous halopéridol et olanzapine diffèrent des animaux PSEUDO sous solvant ($p<0,001$ dans les deux cas). De même, les animaux ENTO sous halopéridol et olanzapine diffèrent des animaux ENTO sous solvant ($p<0,001$ dans les deux cas). De plus, les animaux PSEUDO sous halopéridol diffèrent des animaux PSEUDO sous olanzapine ($p<0,01$) et des animaux ENTO sous halopéridol ($p<0,001$).

Au niveau du **noyau accumbens *core*** (figure 17.3), les deux composés augmentent le niveau d'expression de l'ARNm *c-fos* chez les animaux PSEUDO, mais pas chez les animaux ENTO. Cette description des données est confirmée par l'ANOVA qui révèle un effet des facteurs Traitement ($F(2,16)=17,26$, $p<0,001$), Lésion ($F(1,16)=14,18$, $p<0,01$), ainsi que de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(2,16)=4,98$, $p<0,05$). L'analyse *post-hoc* sur l'interaction montre que les animaux PSEUDO sous halopéridol et olanzapine diffèrent des animaux PSEUDO sous solvant ($p<0,01$ et $p<0,001$, respectivement) et des animaux ENTO sous halopéridol et olanzapine ($p<0,05$ et $p<0,01$, respectivement).

Au niveau du **noyau accumbens *shell*** (figure 17.3), les deux composés augmentent le niveau d'expression de l'ARNm *c-fos* chez les animaux PSEUDO et chez les animaux ENTO, l'effet de l'halopéridol étant moins marqué chez les animaux ENTO. Cette description des données est confirmée par l'ANOVA qui révèle un effet des facteurs Traitement ($F(2,16)=38,12$, $p<0,0001$), Lésion ($F(1,16)=5,13$, $p<0,05$), ainsi que de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(2,16)=7,50$, $p<0,01$). L'analyse *post-hoc* sur l'interaction montre que les animaux PSEUDO sous halopéridol et olanzapine diffèrent des animaux PSEUDO sous solvant ($p<0,001$ dans les deux cas). De même, les animaux ENTO sous halopéridol et olanzapine diffèrent des animaux ENTO sous solvant ($p<0,05$ et $p<0,001$, respectivement).

De plus, les animaux PSEUDO sous halopéridol diffèrent des animaux ENTO sous halopéridol ($p<0,01$).

Au niveau du **septum latéral** (figure 17.3), l'halopéridol et l'olanzapine augmentent le niveau d'expression de l'ARNm *c-fos* chez les animaux PSEUDO. Chez les animaux ENTO, seule l'olanzapine augmente l'expression de l'ARNm *c-fos*. Cette description des données est confirmée par l'ANOVA qui révèle un effet du facteur Traitement ($F(2,16)=11,21$, $p<0,001$), mais pas du facteur Lésion ($F(1,16)=2,42$, ns), ni de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(2,16)=2,17$, ns). L'analyse *post-hoc* de comparaisons multiples entre groupes montre que les animaux PSEUDO sous halopéridol et olanzapine diffèrent des animaux PSEUDO sous solvant ($p<0,05$ dans les deux cas). De plus, les animaux ENTO sous olanzapine diffèrent des animaux ENTO sous solvant ($p<0,05$). Enfin, les animaux ENTO sous halopéridol diffèrent des animaux PSEUDO sous halopéridol ($p<0,05$).

Au niveau de l'**amygdale centrale** (figure 17.4), seule l'olanzapine augmente le niveau d'expression de l'ARNm *c-fos* et ce uniquement chez les animaux PSEUDO. Cette description des données est confirmée par l'ANOVA qui révèle un effet du facteur Traitement ($F(2,13)=5,26$ $p<0,05$), mais pas du facteur Lésion ($F(1,13=0,01$, ns), ni de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(2,13)=2,00$, ns). L'analyse *post-hoc* de comparaisons multiples entre groupes montre que les animaux PSEUDO sous olanzapine diffèrent des animaux PSEUDO sous solvant ($p<0,05$).

Au niveau de l'**amygdale latérale** (tableau 17.1), aucun des deux composés n'affecte l'expression de l'ARNm *c-fos* que ce soit chez les animaux PSEUDO ou les animaux ENTO. Cette description des données est confirmée par l'ANOVA qui ne révèle aucun effet des facteurs Traitement ($F(2,13)=0,40$, ns), Lésion ($F(1,13)=0,17$, ns), ni de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(2,13)=1,06$, ns).

Au niveau des trois régions hippocampiques étudiées, les champs **CA1**, **CA3** et le **gyrus denté** (tableau 17.1), aucun des deux composés n'affecte l'expression de l'ARNm *c-fos* que ce soit chez les animaux PSEUDO ou les animaux ENTO. Cette description des données est confirmée par l'ANOVA qui ne révèle aucun effet des facteurs Traitement ($F(2,14)=0,55$, ns ; $F(2,14)=0,29$, ns ; $F(2,14)=0,84$, ns, respectivement), Lésion ($F(1,14)=1,26$, ns ; $F(1,14)=0,00$, ns ; $F(1,14)=0,01$, ns, respectivement), ni de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(2,14)=2,50$, ns ; $F(2,14)=3,19$, ns ; $F(2,14)=0,71$, ns, respectivement).

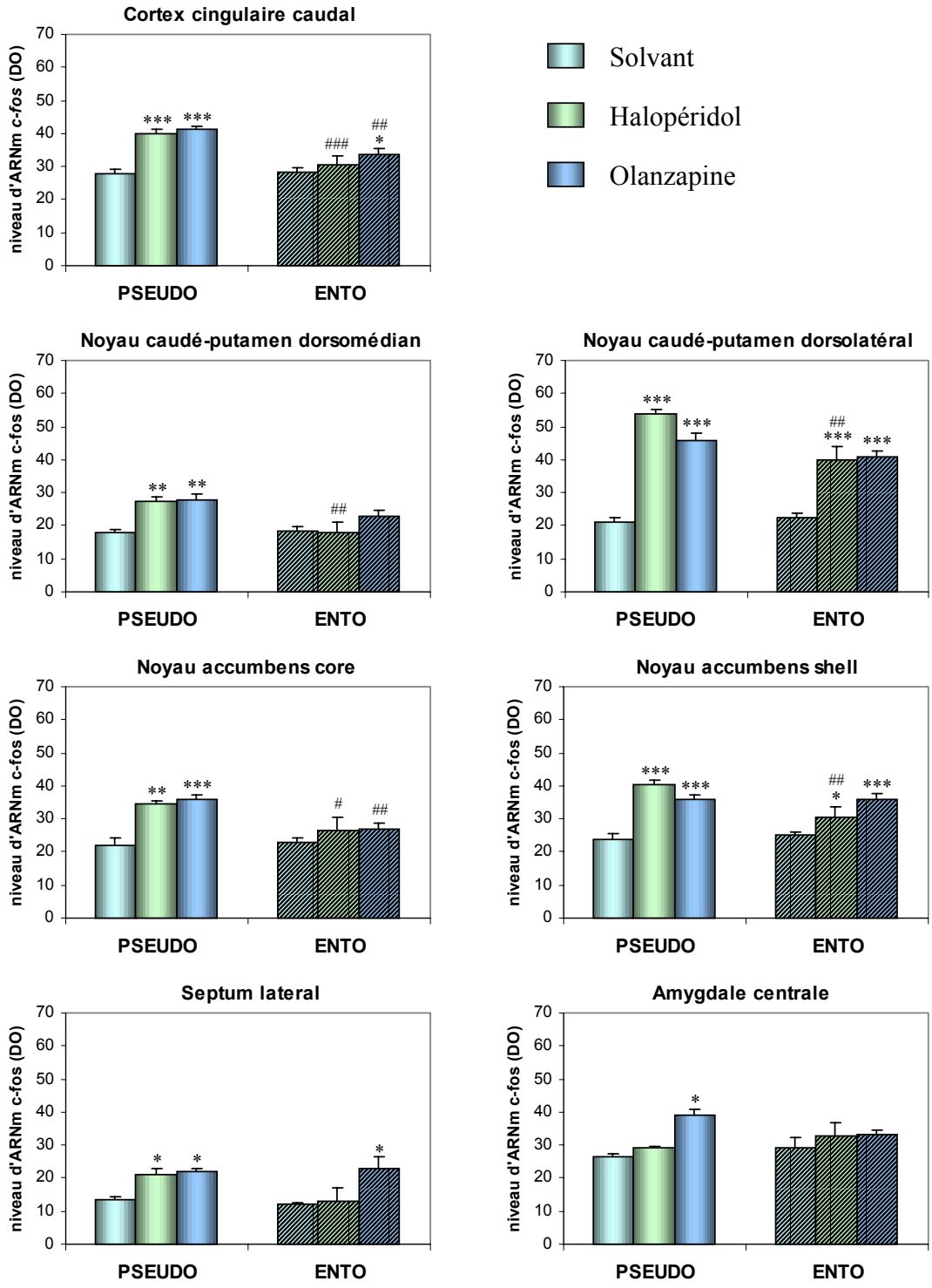


Figure 17.3 : Effet de la lésion du cortex entorhinal sur l'expression du gène *c-fos* induite par l'halopéridol et l'olanzapine. Moyenne (± erreur type) de la densité optique DOm. * : p<0,05 ; ** : p<0,01 et *** : p<0,001 par rapport au groupe sous solvant de la même condition chirurgicale. # : p<0,05 ; ## : p<0,01 et ### : p<0,001 par rapport au groupe PSEUDO ayant reçu le même traitement.

	solvant		halopéridol		olanzapine	
	PSEUDO	ENTO	PSEUDO	ENTO	PSEUDO	ENTO
r Cg Cx	33.1 ± 2.2	30.0 ± 3.0	30.8 ± 0.9	37.6 ± 3.9	32.9 ± 1.4	34.9 ± 3.8
LA	29.4 ± 0.4	33.0 ± 3.5	31.8 ± 0.9	34.9 ± 3.8	35.6 ± 2.3	31.8 ± 2.4
CA1	35.6 ± 0.8	36.6 ± 3.2	38.3 ± 1.4	39.2 ± 5.0	43.0 ± 0.8	33.5 ± 2.0
CA3	31.7 ± 0.9	34.8 ± 2.7	32.0 ± 1.3	36.3 ± 4.6	38.8 ± 1.4	31.5 ± 2.2
DG	38.9 ± 0.8	39.7 ± 2.6	41.9 ± 2.2	44.9 ± 6.2	42.6 ± 1.3	38.1 ± 3.2

Tableau 17.1 : Effet de la lésion du cortex entorhinal sur l'expression du gène *c-fos* induite par l'halopéridol et l'olanzapine. Moyenne (± erreur type) de la densité optique DOm. Abréviations : rCgCx, cortex cingulaire rostral ; LA, amygdale latérale ; CA1, champ CA1 de l'hippocampe ; CA3, champ CA3 de l'hippocampe ; DG, gyrus denté.

	halopéridol		olanzapine	
	PSEUDO	ENTO	PSEUDO	ENTO
rCgCx	-	-	-	-
cCgCx	++	-	++	+
CPu dm	++	-	++	-
CPu dl	+++	++	++	++
core	++	-	++	-
shell	++	+	++	++
SL	+	-	+	+
CA1	-	-	-	-
CA3	-	-	-	-
DG	-	-	-	-
CA	-	-	+	-
LA	-	-	-	-

Tableau 17.2 : Récapitulatif des effets de la lésion du cortex entorhinal sur l'expression du gène *c-fos* induite par l'halopéridol et l'olanzapine. - : absence d'induction ; + : faible induction ; ++ : forte induction ; +++ : très forte induction. Abréviations : rCgCx, cortex cingulaire rostral ; cCgCx, cortex cingulaire caudal ; CPu dm, noyau caudé-putamen dorsomédian ; CPu dl, noyau caudé-putamen dorsolatéral ; core, noyau accumbens *core* ; shell, noyau accumbens *shell* ; SL, septum latéral ; CA1, champ CA1 de l'hippocampe ; CA3, champ CA3 de l'hippocampe ; DG, gyrus denté ; CA, amygdale centrale ; LA, amygdale latérale.

Discussion

Les résultats de cette expérience montrent que l'halopéridol et l'olanzapine augmentent tous deux l'expression de l'ARNm *c-fos* dans plusieurs structures cérébrales, à savoir le cortex cingulaire caudal, le noyau caudé-putamen (dorsomédian et dorsolatéral), le noyau accumbens (*core* et *shell*) et le septum latéral. De plus, l'olanzapine, mais pas l'halopéridol, augmente l'expression de l'ARNm *c-fos* dans l'amygdale centrale. Dans les autres structures étudiées,

aucun des deux composé n'affecte l'expression de l'ARNm *c-fos*. La lésion du cortex entorhinal modifie ce patron d'activation, et ce de façon différente pour chacun des composés. Ainsi, la lésion du cortex entorhinal diminue l'expression de l'ARNm *c-fos* induite par l'halopéridol dans toutes les structures, celle-ci restant cependant présente dans le noyau caudé-putamen dorsolatéral et la partie *shell* du noyau accumbens. Quant à l'expression de l'ARNm *c-fos* induite par l'olanzapine, la lésion du cortex entorhinal ne la diminue de façon significative que dans le cortex cingulaire caudal et la partie *core* du noyau accumbens et elle reste présente dans le cortex cingulaire caudal, le noyau caudé-putamen dorsolatéral, la partie *shell* du noyau accumbens et le septum latéral.

Dans l'ensemble, le patron d'activation obtenu avec l'halopéridol est en accord avec les résultats publiés avec les techniques d'hybridation *in situ* (Hurley et coll., 1996 ; Merchant et coll., 1996 ; Semba et coll., 1999) ou d'immunohistochimie (Ohashi et coll., 1998 ; Sun et coll., 1998). De même, l'absence d'induction observée au niveau du cortex cingulaire rostral, de l'amygdale centrale et de l'hippocampe est en accord avec de précédentes études (Sun et coll., 1998 ; Marcus et coll., 2002 ; Ohashi et coll., 1998, respectivement). Le patron d'activation induit par l'olanzapine est similaire à celui obtenu avec l'halopéridol, à l'exception près que nos résultats montrent que l'olanzapine augmente également l'expression de l'ARNm *c-fos* dans l'amygdale centrale. Ces résultats sont en accord avec les données publiées (Cohen et coll., 2003 ; Ohashi et coll., 1998 ; Robertson et Fibiger, 1996 ; Sebens et coll., 1998 ; technique d'immunohistochimie dans tous les cas).

Alors que l'halopéridol semble induire l'expression de *c-fos* par le blocage des récepteurs D_2, tout au moins au niveau du noyau caudé-putamen (Dragunow et coll., 1990 ; Miller, 1990 ; Rogue et Vincendon, 1992), le mécanisme sous-tendant les effets de l'olanzapine demeure méconnu. En effet, contrairement à l'halopéridol qui cible préférentiellement les récepteurs D_2, l'olanzapine présente une forte affinité pour un grand nombre de récepteurs, à savoir les récepteurs dopaminergiques D_1, D_2, D_3 et D_4, sérotoninergiques 5-HT_{2a}, 5-HT_3 et 5-HT_6, adrénergiques α-1, histaminergique H_1, et muscariniques (Bymaster et coll., 1996). Dans la mesure où nous observons une activation similaire entre l'halopéridol et l'olanzapine dans le cortex cingulaire caudal, le noyau caudé-putamen, le noyau accumbens et le septum latéral, il est possible d'envisager que, dans ces structures, les effets de l'olanzapine puisse dépendre, tout comme ceux de l'halopéridol, du blocage des récepteurs D_2. Cette proposition est soutenue par l'existence d'une tolérance croisée entre ces deux composés dans ces mêmes

structures (Sebens et coll., 1998), mais également par la forte occupation des récepteurs D_2 par l'olanzapine (à la concentration utilisée) décrite *in vivo* au niveau des noyaux caudé-putamen et accumbens (Bymaster et coll., 1997). Néanmoins, au niveau du noyau caudé-putamen dorsolatéral, le niveau d'induction obtenu avec l'olanzapine est moindre, et pourrait résulter de sa propension à bloquer également les récepteurs 5-HT_{2a} (Zhang et Bymaster, 1999). En effet, non seulement des composés présentant une affinité mixte pour les récepteurs D_2 et 5-HT_2 (par exemple, la clozapine et la pérospirone) sont connus pour leur faible induction de *c-fos* dans le noyau caudé-putamen dorsolatéral (Ishibashi et coll., 1999), mais le blocage des récepteurs 5-HT_2 par les antagonistes ritansérine et kétansérine permet de diminuer l'expression de *c-fos* induite par l'halopéridol dans cette même région (Ishibashi et coll., 1996). Dans l'ensemble, ces données indiquent donc que l'halopéridol et l'olanzapine augmente l'expression de *c-fos* dans les même structures cérébrales, à l'exception de l'amygdale centrale. Bien que la dissociation observée au niveau de l'amygdale semble suggérer que l'olanzapine induise l'expression de *c-fos via* un mécanisme distinct de celui énoncé précédemment (l'halopéridol n'ayant pas d'effet), ceci étant en accord avec l'absence de tolérance croisée entre l'halopéridol et l'olanzapine dans cette région (Sebens et coll., 1998), il semble raisonnable d'émettre quelques réserves. En effet, plusieurs études ont décrit une augmentation de l'expression de *c-fos* par l'halopéridol (à la concentration de 1 mg/kg) dans l'amygdale centrale (Ma et coll., 2003 ; Sebens et coll., 1995 ; Suzuki et coll., 1998, mais Pinna et Morelli, 1999), et une étude ayant comparé les effets de l'olanzapine et de l'halopéridol a décrit des effets comparables de ces deux composés dans l'amygdale centrale (Cohen et coll., 2003).

La lésion du cortex entorhinal n'altère pas l'expression basale de *c-fos* (animaux sous solvant). Bien qu'une induction de gènes précoces ait été décrite suite à la lésion du cortex entorhinal, elle est transitoire et n'est plus observable 15 jours après la lésion (Haas et coll., 1999). L'absence d'effet dans notre expérience est par conséquent en accord avec cette étude. Par contre, la lésion du cortex entorhinal affecte l'expression du gène *c-fos* induite par l'halopéridol et l'olanzapine. Il est d'ailleurs intéressant de noter que cette altération ne se produit pas uniquement au niveau du noyau accumbens, suggérant que la lésion du cortex entorhinal entraîne des altérations fonctionnelles dans un ensemble de structures cérébrales. Ainsi, l'expression de l'ARNm *c-fos* induite par l'halopéridol est fortement réduite dans toutes les structures étudiées, cette diminution étant cependant moins marquée dans le noyau caudé-

putamen dorsolatéral et la partie *shell* du noyau accumbens. Quant à l'expression de l'ARNm *c-fos* induite par l'olanzapine, elle est fortement diminuée dans la partie *core* du noyau accumbens, le noyau caudé-putamen dorsomédian, l'amygdale centrale, diminuée de façon moins marquée dans le cortex cingulaire caudal, et n'est pas affectée dans le noyau caudé-putamen dorsolatéral, la partie *shell* du noyau accumbens et le septum latéral. Comme explicité dans l'introduction de ce chapitre, l'altération de l'expression du gène *c-fos* induite par l'halopéridol peut résulter : 1) d'une perte des récepteurs ciblés par l'halopéridol, 2) d'une altération de la libération tonique de dopamine, et/ou 3) de la perte d'une neurotransmission excitatrice. Concernant le premier point, nous n'avons à l'heure actuelle, aucune donnée relative à des modifications de l'expression des récepteurs D_2 suite à une lésion du cortex entorhinal. Quant aux effets sur la transmission dopaminergique de lésions du cortex entorhinal, les données de la littérature restent controversées. Ainsi, une augmentation de la concentration tissulaire de dopamine dans les noyaux caudé-putamen et accumbens a été obtenue à la suite de lésions néonatales du cortex entorhinal (Uehara et coll., 2000), alors qu'une diminution du niveau de dopamine dans le noyau accumbens a été décrite suite à une lésion à la 6-OHDA du cortex entorhinal (Louilot et Choulli, 1997). Enfin, aucune modification du niveau basal de dopamine dans le noyau accumbens, ni de la libération induite par la *d*-amphétamine, n'a pu être observée suite à des lésions électrolytiques du cortex entorhinal (Coutureau et coll., 2002). Dès lors, la diminution de l'expression de *c-fos* obtenue dans notre expérience pourrait résulter de la perte de la composante excitatrice essentielle pour que cette expression se produise. Le cortex entorhinal se projette vers toutes les structures considérées (cf. introduction) et ces projections utilisent le glutamate comme neurotransmetteur (Brothers et Finch, 1985 ; Finch et coll., 1995 ; Leranth et coll., 1999) bien que cela n'ait pas encore été démontré dans le cas du cortex cingulaire. Or, l'expression de *c-fos* induite par l'halopéridol peut être diminuée suite au blocage des récepteurs au glutamate, et ce au niveau du noyau caudé-putamen (Chartoff et coll., 1999 ; de Souza et Meredith, 1999 ; Dragunow et coll., 1990 ; Hussain et coll., 2001 ; Ziolkowska et Hollt, 1993) et du noyau accumbens (Hussain et coll., 2001, mais de Souza et Meredith, 1999), les effets du blocage des récepteurs glutamatergiques sur cette expression n'ayant pas été testés au niveau d'autres structures à notre connaissance. Il est alors tentant d'attribuer les effets observés à la perte des fibres glutamatergiques en provenance du cortex entorhinal, mais ceci ne permet cependant pas de rendre compte de la dissociation d'effet observée entre l'halopéridol et l'olanzapine, et ce notamment au niveau de la partie *shell* du noyau accumbens, du septum latéral et du noyau

caudé-putamen dorsolatéral. Cette dissociation, mais également la présence d'induction résiduelle dans certaines régions, indiquent que ces deux composés doivent cibler des neurones distincts.

En résumé, les résultats de cette expérience montrent que la lésion du cortex entorhinal modifie l'expression du gène c-fos induite par l'halopéridol au niveau du noyau accumbens, mais également dans d'autres régions cérébrales. La lésion affecte également le pattern d'expression induit par l'olanzapine, mais de façon moins marquée, et ce notamment au niveau de la partie shell du noyau accumbens, du septum latéral et du noyau caudé-putamen. Cette dissociation dans les effets de la lésion sur l'induction de c-fos par l'halopéridol et l'olanzapine suggère que non seulement ces deux composés agissent sur des cibles distinctes, mais que ces cibles présentent une sensibilité différente aux effets de la lésion du cortex entorhinal. L'expérience suivante vise à déterminer quels sont les neurones ciblés par ces deux composés, et quels sont ceux affectés préférentiellement par la lésion.

EXPERIENCE 18 : EFFET DE LA LESION DU CORTEX ENTORHINAL SUR L'EXPRESSION DE C-FOS INDUITE PAR L'HALOPERIDOL, L'OLANZAPINE ET LA CLOZAPINE. DETERMINATION DU PHENOTYPE (MET-ENKEPHALINE) DES NEURONES CIBLES.

Introduction

Le but de cette expérience est de déterminer le phénotype des neurones dans lesquels les composés antipsychotiques induisent l'expression du gène *c-fos*, afin d'identifier ceux dans lesquels cette expression est affectée par la lésion du cortex entorhinal. Sur la base des résultats de l'expérience précédente et des données de la littérature, nous nous sommes focalisés sur le phénotype des neurones du striatum (noyau accumbens et noyau caudé-putamen), et ce malgré un plus large champ d'investigation (l'amygdale, l'hippocampe, le septum et les cortex cingulaire, prélimbique et infralimbique) quant à l'expression du gène *c-fos*. Au sein du striatum, il existe plusieurs types de neurones pouvant être regroupés en deux catégories : les interneurones et les neurones de projection (pour revue, voir Graybiel, 1990 et Meredith, 1999 pour le noyau caudé-putamen et le noyau accumbens, respectivement). La première catégorie regroupe des interneurones cholinergiques et GABAergiques, ces derniers comprenant au moins trois populations différentes : des cellules exprimant la parvalbumine, la calrétinine ou la somatostatine (pour revue, voir Kawaguchi et coll., 1995). La deuxième catégorie qui représente 90-95% des neurones du striatum correspond aux neurones épineux de taille moyenne (GABAergiques) qui constituent deux populations principales selon qu'ils expriment la préproenképhaline, codant pour la met-enképhaline, ou la préprodynorphine / préprotachynine A, codant pour la dynorphine A / substance P (Lee et coll., 1997). Les données relatives au phénotype des neurones dans lesquels les composés antipsychotiques induisent l'expression du gène *c-fos* sont rares, et concernent essentiellement l'halopéridol, ainsi qu'un antipsychotique atypique, la clozapine, l'olanzapine n'ayant pas été étudiée. Il a ainsi été montré que ces composés n'induisaient pas l'expression de *c-fos* dans les interneurones (Hiroi et Graybiel, 1996 ; Ma et coll., 2003), mais dans les neurones de projection (Carta et Gerfen, 1999 ; Guo et coll., 1998 ; Hiroi et Graybiel, 1996 ; Hiroi et coll., 2002 ; Ma et coll., 2003 ; Robertson et coll., 1992 , Robertson et Jian, 1995). De fait, nous avons voulu déterminer si les neurones dans lesquels l'halopéridol et l'olanzapine induisent l'expression du gène *c-fos*, expriment la met-enképhaline ou la dynorphine / substance P et si ce patron d'expression est modifié par la lésion du cortex entorhinal. Par souci de

comparaison avec les données publiées, nous avons également utilisé la clozapine dans la même expérience. Dans la mesure où ces peptides ne sont pas (ou très peu) co-localisés (Augood et coll., 1997 ; Lee et coll., 1997), nous avons procédé à un double marquage c-Fos / met-enképhaline, considérant les neurones cibles met-enképhaline négatifs comme des neurones dynorphine / substance P. Pour cela nous avons utilisé une technique d'immunohistochimie qui permet une résolution au niveau cellulaire.

Matériel et méthodes

Animaux

Quarante huit rats sont utilisés dans cette expérience conduite en deux réplications. L'intervention chirurgicale se déroule selon la méthode décrite dans l'expérience 3, à l'exception des points suivants. Au niveau des deux sites d'injection les plus ventraux, un volume de 0,3 µl de NMDA est injecté à une vitesse de 0,2 µl/min et pour le site le plus dorsal un volume de 0,2 µl de NMDA est injecté. Après chaque injection, la canule est maintenue en place pendant cinq minutes afin de permettre la diffusion du NMDA. Trente deux rats subissent une lésion du cortex entorhinal (ENTO) et 16 rats servent de témoins pseudo-opérés (PSEUDO).

Traitement pharmacologique

Afin de minimiser l'induction de c-Fos par le stress, les animaux sont manipulés, à raison de quelques minutes par jour, pendant trois jours avant l'administration des composés pharmacologiques. L'halopéridol (Sigma), l'olanzapine (Lilly, USA) et la clozapine (Sandoz) sont dissous dans une solution d'acide acétique (40 µl d'acide acétique à 20% dans 1 ml de NaCl 0,9%) de façon à obtenir des concentrations de 1 mg/kg, 10 mg/kg et 20 mg/kg, respectivement. Les trois composés ainsi que le solvant sont administrés par voie intrapéritonéale à raison de 1 ml/kg et ce 2 heures avant le sacrifice des animaux.

Sacrifice et préparation des coupes

Les animaux sont euthanasiés par une administration intrapéritonéale d'une dose létale de pentobarbital (120 mg/kg). La cage thoracique est alors ouverte de manière à bien dégager le système cardio-vasculaire. Après mise en place d'un clamp sur l'aorte dorsale et incision de l'oreillette droite, les animaux sont perfusés par voie intracardiaque (*via* le ventricule gauche) avec 60 ml de NaCl (0,9 %, 4°C), puis avec 300 ml de fixateur (paraformaldéhyde à 4 % / acide picrique 0,2% dans du tampon phosphate à 0,1 M, 4°C) en perfusion lente (débit de 20 ml/min). Les rats sont ensuite décapités et leur cerveau délicatement prélevé puis divisé (section à environ -4 mm par rapport au Bregma) en une partie antérieure (pour l'immunohistochimie) et une partie postérieure (pour la vérification histologique).

La partie postérieure est post-fixée par immersion dans le fixateur pendant 2 heures puis est transférée dans une solution cryoprotectrice (saccharose à 30% dans du PBS, 4°C) pour une durée de 48 heures, avant d'être congelée par immersion dans de l'isopentane refroidit à -40°C par de la carboglace, et stockée à -80°C. Des coupes frontales de 30 µm sont réalisées à l'aide d'un cryotome et montées sur des lames gélatinées. Pour le contrôle histologique de l'étendue de la lésion, une coupe sur 5 est prélevée au niveau du cortex entorhinal (de -6,3 mm à -8,3 mm par rapport au Bregma).

La partie antérieure est post-fixée par immersion dans le fixateur pendant 72 heures puis des coupes frontales flottantes de 20 µm sont réalisées à l'aide d'un vibratome. Pour chaque animal, 3 coupes sériées sont récupérées à chacun des niveaux suivants : +2,7 mm, +1,6 mm et –2,8 mm par rapport au Bregma (Paxinos et Watson, 1998). Ces coupes sont récupérées dans un milieu de cryoprotection puis stockées à -20°C.

Immunohistochimie

Un double marquage immunohistochimique est réalisé sur les mêmes coupes : un marquage de la protéine c-Fos puis un marquage de la méthionin-enképhaline (Met-enk). La protéine c-Fos étant localisée au niveau du noyau et la Met-enk se trouvant au niveau du péricaryon et du neuropile, ces deux antigènes peuvent être visualisés sur la même préparation.

Les coupes flottantes sont sorties du congélateur (-20°C), puis réparties dans des puits de plaques de microtitration contenant 500 µl de PBS. Chaque puits contient six coupes : une

pour chacun des 3 niveaux de coupes pour un animal PSEUDO et pour un animal ENTO ayant reçu le même traitement. Les incubations ainsi que les lavages (volume des solutions constant : 500 µl/puits) se font sous agitation lente (et à température ambiante) afin de faciliter la pénétration des solutions à travers le tissu.

Afin de vérifier la spécificité des marquages, des coupes ont été incubées en l'absence soit de l'anticorps primaire anti-c-Fos, soit de l'anticorps primaire anti-Met-enk, soit des deux anticorps primaires (figure 18.1).

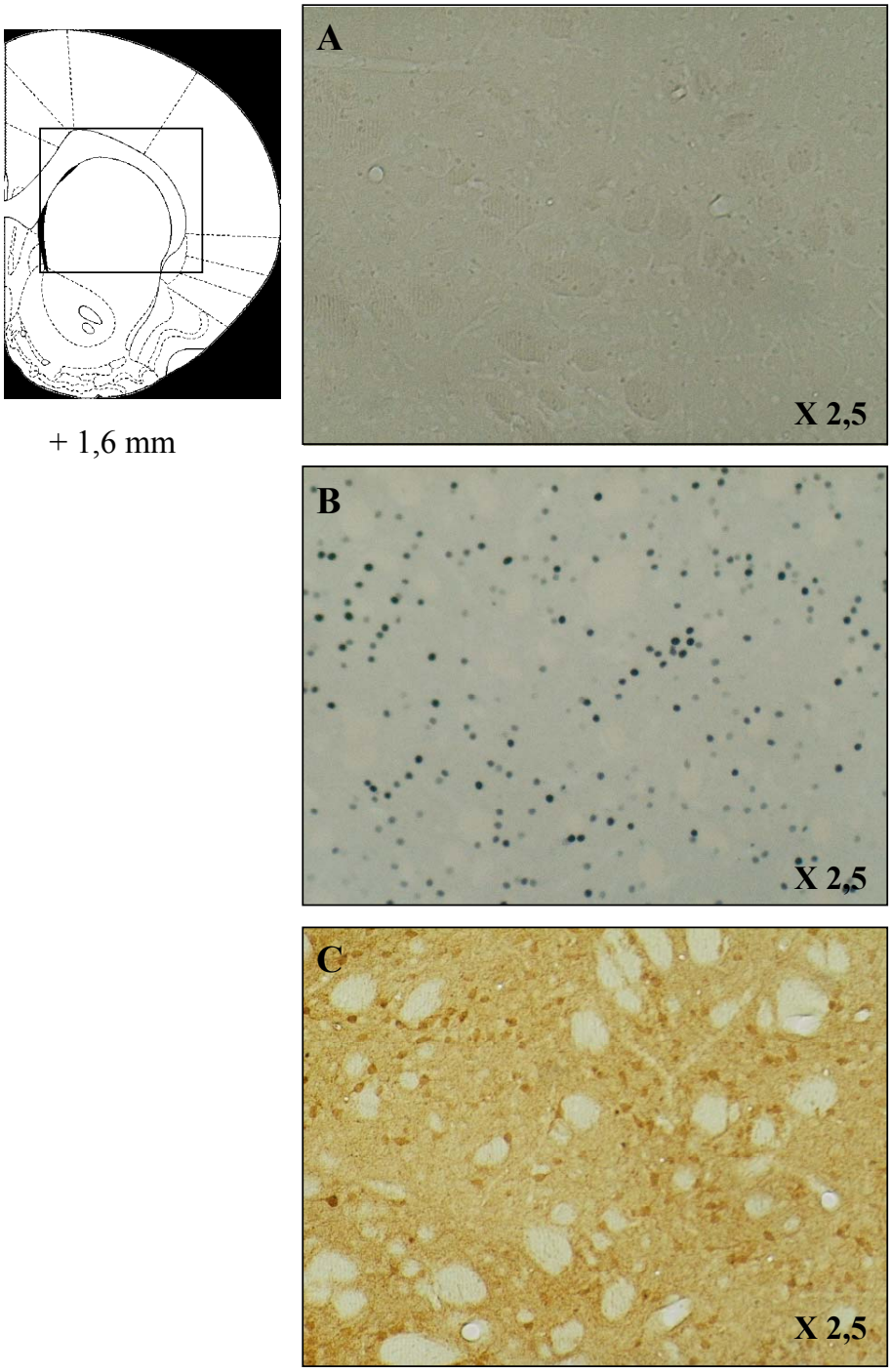


Figure 18.1 : Photographies prises au niveau de l'aire délimitée sur le schéma de gauche (adapté de Paxinos et Watson, 1998) d'une coupe frontale d'un cerveau d'un animal du groupe PSEUDO-HALO, la coupe en A ayant été incubée en l'absence des deux anticorps primaires, celle en B en l'absence de l'anticorps primaire anti-Met-enk et celle en C en l'absence de l'anticorps primaire anti-c-Fos.

Marquage de la protéine c-Fos : Après trois lavages (PBS, 10 min), les coupes sont incubées pendant 1 nuit en présence de l'anticorps primaire dilué au 1/4000ème (anticorps polyclonal de mouton dirigé contre la protéine c-Fos ; Sigma-Genosys). Puis on réalise à nouveau 3 lavages (PBS, 10 min), avant d'incuber les coupes pendant 1 heure en présence de l'anticorps secondaire dilué au 1/375ème (anticorps d'âne biotinylé dirigé contre les immunoglobulines de mouton ; Interchim). Les coupes sont ensuite lavées 3 fois (PBS, 10 min) avant d'être incubées pendant 1 heure à l'obscurité en présence du complexe avidine-biotine-péroxydase (Kit "Elite" ABC, Vectastain ; Vector). Puis, toujours à l'obscurité, on réalise 3 lavages (PBS, 10 min), avant de procéder à la révélation par immersion des coupes dans une solution de Tris-Nickel DAB pendant 8 minutes. On arrête alors la réaction en procédant à 3 lavages (PBS, 10 min).

Marquage de la Met-enképhaline : Après trois nouveaux lavages (PBS, 15 min), les coupes sont incubées pendant 30 min en présence de sérum d'âne (espèce productrice de l'anticorps secondaire ; dilué à 5%), puis pendant 1 nuit en présence de l'anticorps primaire dilué au 1/5000ème (anticorps polyclonal de lapin dirigé contre la Methionin-enképhaline ; généreusement offert par le Dr Tramu). On réalise à nouveau 3 lavages (PBS, 10 min), avant d'incuber les coupes pendant 30 min en présence de l'anticorps secondaire dilué au 1/200ème (anticorps d'âne biotinylé dirigé contre les immunoglobulines de lapin ; Amersham). On réalise ensuite 3 lavages (PBS, 10 min), suivis d'un bain de 10 min dans une solution de Tris HCl 0,05 M. Puis on procède à la révélation par immersion des coupes dans une solution de DAB (système Envision) pendant 8 minutes. Enfin, on arrête la réaction en procédant à 3 lavages (PBS, 10 min).

Montage des coupes sur lames : Les coupes sont montées sur des lames gélatinées puis les lames sont placées dans une étuve à 40°C pendant une nuit. Les coupes sont ensuite déshydratées dans des bains d'éthanol de concentration croissante : 70%, 95%, et deux fois 100%. Après deux bains de LMRsol, on procède au montage des lames dans de l'Eukitt.

Quantification

Les cellules immunoréactives pour c-Fos, pour la Met-enk, ou pour les deux (cellules doublement marquées) sont comptabilisées par observation visuelle au microscope optique à l'objectifs X25, à l'aide d'une grille carrée (330 x 330 µm). La surface de comptage a été adaptée en fonction de l'aire cérébrale considérée (figure 18.2), pouvant aller de 65 x 330 µm²

pour les régions hippocampiques à 660 x 660 µm² pour certaines régions striatales. Les comptages ont été effectués sur chaque hémisphère de chacune des 3 coupes sériées disponibles par niveau de coupe et par animal et les données ainsi obtenues sont moyennées, fournissant un nombre moyen de neurones marqués pour chaque structure et par animal.

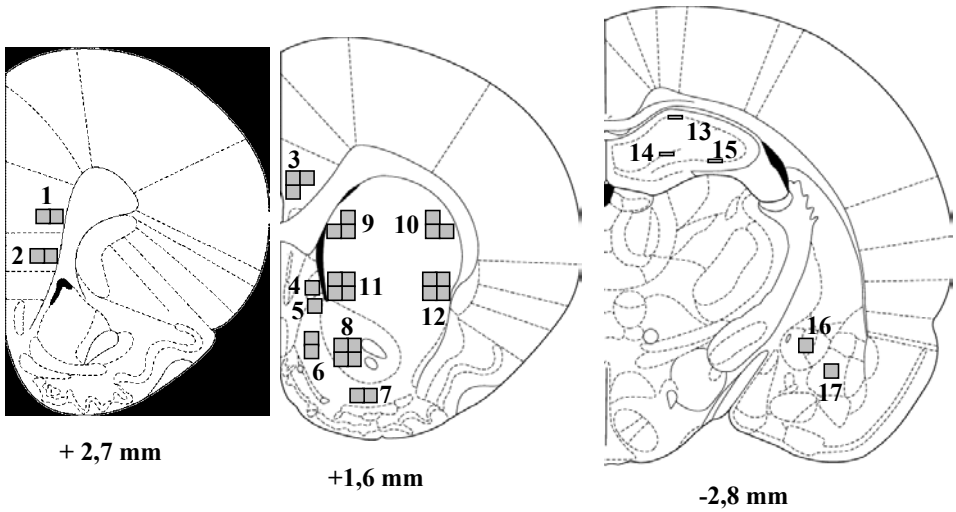


Figure 18.2 : Représentation schématique, sur des planches adaptées de l'atlas stéréotaxique de Paxinos et Watson (Paxinos et Watson, 1998), des zones échantillonnées pour chacune des structures étudiées : cortex prélimbique (1) et infralimbique (2), cortex cingulaire (3), septum latéral (4), noyau accumbens *shell* partie dorsale (5), partie médiane (6) et partie ventrale (7), noyau accumbens *core* (8), noyau caudé-putamen dorsomédian (9), dorsolatéral (10), ventromédian (11) et ventrolatéral (12), champs CA1 (13) et CA3 (15) de l'hippocampe, gyrus denté (14), amygdale centrale (16) et latérale (17).

Analyse des données

Pour chaque région cérébrale, le nombre de neurones marqués c-Fos fait l'objet d'une analyse de la variance (ANOVA) à deux facteurs (facteurs Traitement à 4 niveaux [solvant ; halopéridol ; olanzapine ; clozapine] et facteur Lésion à 2 niveaux [PSEUDO ; ENTO]). Pour les régions striatales, le nombre de neurones marqués Met-enk, le nombre de neurones doublement marqués et le nombre de neurones marqués c-Fos mais pas Met-enk, font l'objet d'une analyse de variance (ANOVA) à deux facteurs (facteur Traitement à 4 niveaux [solvant ; halopéridol ; olanzapine ; clozapine] et facteur Lésion à 2 niveaux [PSEUDO ; ENTO]). Les différences entre les groupes sont établies par des comparaisons *post-hoc* avec le test de Newman-Keuls.

Résultats

Vérifications histologiques

Seize rats ont été écartés de l'analyse statistique des résultats sur la base des critères suivants : atteinte importante du gyrus denté et/ou du champ CA1 de l'hippocampe (n=10), atteinte unilatérale (n=2), atteinte insuffisante du cortex entorhinal (n=4). A l'issue de la vérification histologique, les effectifs de chacun des groupes sont les suivants : PSEUDO-solvant (n=4), PSEUDO-halopéridol (n=4), PSEUDO-olanzapine (n=4), PSEUDO-clozapine (n=4), ENTO-solvant (n=4), ENTO-halopéridol (n=4), ENTO-olanzapine (n=4) et ENTO-clozapine (n=4).

Comme l'illustre la figure 18.3 la lésion s'étend des plans -6,3 mm à -8,8 mm par rapport au Bregma. La lésion affecte préférentiellement la partie médiane du cortex entorhinal, mais la partie latérale est également touchée. Les couches profondes sont systématiquement touchées. Il faut également noter une atteinte subiculaire postérieure dans la majorité des cas, et parfois une légère atteinte au niveau de CA1, ainsi que des cortex le long du corps calleux. Aucune atteinte n'est observée chez les animaux PSEUDO.

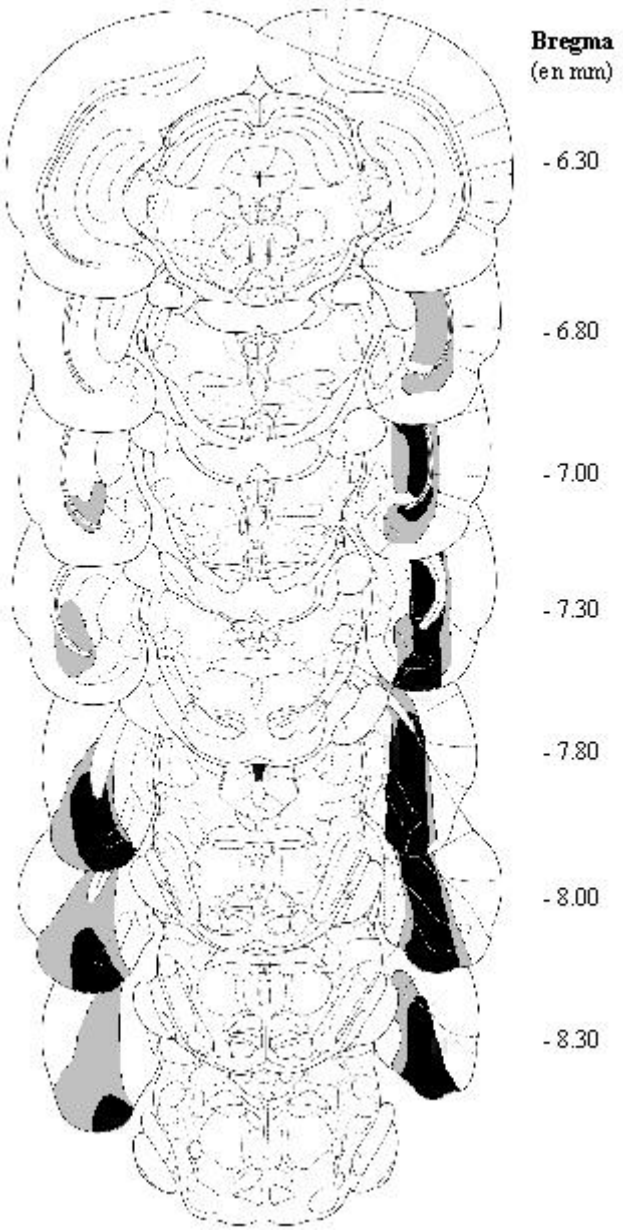


Figure 18.3 : Représentation schématique de la plus petite (en noir) et de la plus grande (en gris) étendue des lésions du cortex entorhinal. Les coordonnées des sections frontales correspondent à la distance par rapport au Bregma (d'après Paxinos et Watson, 1998).

Marquages immunohistochimiques

Expression de c-Fos

Les résultats obtenus dans le cortex infralimbique, le septum latéral, la partie dorsale du noyau accumbens *shell*, la partie *core* du noyau accumbens, le noyau caudé-putamen dorsolatéral et dorsomédian et l'amygdale centrale sont illustrés à la figure 18.4. Les résultats obtenus dans les autres régions cérébrales étudiées sont indiqués dans le tableau 18.1. L'ensemble de ces données est résumé dans le tableau 18.2.

Dans toutes les aires cérébrales étudiées, l'injection de solvant produit un patron d'activation similaire entre les animaux PSEUDO et les animaux ENTO, suggérant que la lésion *per se* ne modifie pas l'expression du gène *c-fos*.

Au niveau du **cortex prélimbique** (tableau 18.1), seule la clozapine semble augmenter le nombre de neurones marqués chez les animaux PSEUDO, aucun des composés n'affectant le nombre de neurones marqués chez les animaux ENTO. Cette description n'est cependant pas soutenue par l'ANOVA bien que celle-ci révèle un effet proche de la significativité pour les facteurs Traitement ($F(3,24)=2,63$, $p=0,07$), Lésion ($F(1,24)=3,14$, $p=0,09$), mais pas de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(3,24)=1,36$, ns).

Au niveau du **cortex infralimbique** (figure 18.4), les trois composés semblent augmenter le nombre de neurones marqués chez les animaux PSEUDO mais pas chez les animaux ENTO. L'ANOVA révèle un effet du facteur Traitement ($F(3,24)=7,23$, $p<0,01$), mais pas du facteur Lésion ($F(1,24)=2,27$, ns), ni de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(3,24)=0,60$, ns). L'analyse *post-hoc* sur le facteur Traitement indique que les groupes sous halopéridol et sous clozapine diffèrent du groupe sous solvant ($p<0,01$ dans les deux cas), le groupe sous olanzapine tendant à différer du groupe sous solvant ($p=0,07$). L'analyse *post-hoc* de comparaisons multiples entre groupes montre que seul les animaux PSEUDO sous clozapine diffèrent des animaux PSEUDO sous solvant ($p<0,01$).

Au niveau du **cortex cingulaire** (tableau 18.1), seule la clozapine semble augmenter le nombre de neurones marqués chez les animaux PSEUDO, aucun des composés n'affectant le nombre de neurones marqués chez les animaux ENTO. L'ANOVA révèle un effet proche de la significativité pour le facteur Traitement ($F(3,24)=2,71$, $p=0,07$), un effet du facteur Lésion

($F(1,24)=4,78$, $p<0,05$), mais pas de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(3,24)=0,58$, ns). L'analyse *post-hoc* sur le facteur Traitement indique que le groupes sous clozapine diffère du groupe sous solvant ($p=0,05$). L'analyse *post-hoc* de comparaisons multiples entre groupes montre que seul les animaux PSEUDO sous clozapine tendent à différer des animaux PSEUDO sous solvant ($p=0,09$).

Au niveau du **septum latéral** (figure 18.4), l'olanzapine et la clozapine augmentent le nombre de neurones marqués chez les animaux PSEUDO, mais également chez les animaux ENTO. L'ANOVA révèle un effet du facteur Traitement ($F(3,24)=27,00$, $p<0,0001$), mais pas du facteur Lésion ($F(1,24)=0,10$, ns), ni de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(3,24)=0,20$, ns). L'analyse *post-hoc* sur le facteur Traitement indique que les groupes sous olanzapine et sous clozapine différent du groupe sous solvant ($p<0,001$ dans les deux cas), le groupe sous halopéridol tendant à différer du groupe sous solvant ($p=0,09$). L'analyse *post-hoc* de comparaisons multiples entre groupes montre que les animaux PSEUDO sous olanzapine et sous clozapine diffèrent des animaux PSEUDO sous solvant et sous halopéridol ($p<0,01$ au moins) et que les animaux ENTO sous olanzapine et sous clozapine diffèrent des animaux ENTO sous solvant et sous halopéridol ($p<0,01$ au moins).

Au niveau de **la partie dorsale du noyau accumbens *shell*** (figure 18.4), les trois composés augmentent le nombre de neurones marqués chez les animaux PSEUDO et chez les animaux ENTO. L'ANOVA révèle un effet des facteurs Traitement ($F(3,24)=24,86$, $p<0,0001$), Lésion ($F(1,24)=7,41$, $p<0,05$), mais pas de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(3,24)=0,24$, ns). L'analyse *post-hoc* sur le facteur Traitement indique que les groupes sous halopéridol, sous olanzapine et sous clozapine diffèrent du groupe sous solvant ($p<0,001$ dans tous les cas). L'analyse *post-hoc* de comparaisons multiples entre groupes montre que les animaux PSEUDO sous halopéridol, sous olanzapine et sous clozapine diffèrent des animaux PSEUDO sous solvant ($p<0,001$ dans tous les cas) et que les animaux ENTO sous halopéridol, sous olanzapine et sous clozapine diffèrent des animaux ENTO sous solvant ($p<0,001$ dans tous les cas).

Au niveau de **la partie médiane du noyau accumbens *shell*** (tableau 18.1), les trois composés augmentent le nombre de neurones marqués chez les animaux PSEUDO et chez les animaux ENTO. L'ANOVA révèle un effet du facteur Traitement ($F(3,24)=33,27$, $p<0,0001$), mais pas du facteur Lésion ($F(1,24)=0,41$, ns), ni de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(3,24)=0,55$, ns). L'analyse *post-hoc* sur le facteur Traitement indique que les groupes sous halopéridol, sous olanzapine et sous clozapine diffèrent du groupe sous solvant ($p<0,001$ dans

tous les cas). De plus, les groupes sous olanzapine et sous clozapine diffèrent du groupes sous halopéridol ($p<0,01$). L'analyse *post-hoc* de comparaisons multiples entre groupes montre que les animaux PSEUDO sous halopéridol, sous olanzapine et sous clozapine diffèrent des animaux PSEUDO sous solvant ($p<0,001$ dans tous les cas) et que les animaux ENTO sous halopéridol, sous olanzapine et sous clozapine diffèrent des animaux ENTO sous solvant ($p<0,01$ au moins).

Au niveau de **la partie ventrale du noyau accumbens *shell*** (tableau 18.1), aucun des composés n'affecte le nombre de neurones marqués comme le confirme l'ANOVA qui ne révèle aucun effet des facteurs Traitement, bien que celui-ci soit proche de la significativité ($F(3,24)=2,67$, $p=0,07$), Lésion ($F(1,24)=0,01$, ns), ni de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(3,24)=0,38$, ns). L'analyse *post-hoc* sur le facteur traitement indique que les groupes sous clozapine diffèrent des groupes sous solvant ($p<0,05$). L'analyse *post-hoc* de comparaisons multiples entre groupes montre que les animaux ENTO sous clozapine tendent à différer des animaux ENTO sous solvant ($p=0,07$).

Au niveau du **noyau accumbens *core*** (figure 18.4), les trois composés augmentent le nombre de neurones marqués chez les animaux PSEUDO et chez les animaux ENTO. L'ANOVA révèle un effet du facteur Traitement ($F(3,24)=22,90$, $p<0,0001$), mais pas du facteur Lésion ($F(1,24)=0,03$, ns), ni de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(3,24)=0,62$, ns). L'analyse *post-hoc* sur le facteur Traitement indique que les groupes sous halopéridol, sous olanzapine et sous clozapine diffèrent du groupe sous solvant ($p<0,001$ dans tous les cas). L'analyse *post-hoc* de comparaisons multiples entre groupes montre que les animaux PSEUDO sous halopéridol, sous olanzapine et sous clozapine diffèrent des animaux PSEUDO sous solvant ($p<0,01$ au moins) et que les animaux ENTO sous halopéridol, sous olanzapine et sous clozapine diffèrent des animaux ENTO sous solvant ($p<0,01$ au moins).

Au niveau du **noyau caudé-putamen dorsomédian** (figure 18.4), les trois composés augmentent le nombre de neurones marqués chez les animaux PSEUDO et chez les animaux ENTO. L'ANOVA révèle un effet du facteur Traitement ($F(3,24)=12,84$, $p<0,0001$), mais pas du facteur Lésion ($F(1,24)=0,05$, ns), ni de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(3,24)=0,92$, ns). L'analyse *post-hoc* sur le facteur Traitement indique que les groupes sous halopéridol, sous olanzapine et sous clozapine diffèrent du groupe sous solvant ($p<0,01$ au moins). De plus, le groupe sous halopéridol diffère du groupe sous clozapine ($p<0,05$) et tend à différer du groupe sous olanzapine ($p=0,07$). L'analyse *post-hoc* de comparaisons multiples entre groupes montre que les animaux PSEUDO sous halopéridol et sous clozapine diffèrent des

animaux PSEUDO sous solvant ($p<0,01$ et $p<0,05$, respectivement), le groupe sous olanzapine tendant à différer du groupe sous solvant ($p=0,07$). De plus, les animaux ENTO sous halopéridol et sous olanzapine diffèrent des animaux ENTO sous solvant ($p<0,01$ et $p<0,05$, respectivement).

Au niveau du **noyau caudé-putamen dorsolatéral** (figure 18.4), les trois composés augmentent le nombre de neurones marqués chez les animaux PSEUDO et chez les animaux ENTO. L'ANOVA révèle un effet du facteur Traitement ($F(3,24)=39,89$, $p<0,0001$), mais pas du facteur Lésion ($F(1,24)=1,04$, ns), ni de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(3,24)=0,21$, ns). L'analyse *post-hoc* sur le facteur Traitement indique que les groupes sous halopéridol, sous olanzapine et sous clozapine diffèrent du groupe sous solvant ($p<0,001$ dans tous les cas). De plus, le groupe sous halopéridol diffère des groupe sous olanzapine et sous clozapine ($p<0,05$ et $p<0,001$, respectivement). Enfin, le groupe sous olanzapine diffère du groupe sous clozapine ($p<0,01$). L'analyse *post-hoc* de comparaisons multiples entre groupes montre que les animaux PSEUDO sous halopéridol, sous olanzapine et sous clozapine diffèrent des animaux PSEUDO sous solvant ($p<0,05$ au moins) et que les animaux ENTO sous halopéridol, sous olanzapine et sous clozapine diffèrent des animaux ENTO sous solvant ($p<0,01$ au moins). De plus, les groupes clozapine PSEUDO et ENTO diffèrent des groupes halopéridol PSEUDO et ENTO, respectivement ($p<0,01$ dans les deux cas) et des groupes olanzapine PSEUDO et ENTO, respectivement ($p<0,05$ et $p=0,05$).

Au niveau du **noyau caudé-putamen ventromédian** (tableau 18.1), les trois composés augmentent le nombre de neurones marqués chez les animaux PSEUDO, mais seul l'halopéridol et l'olanzapine augmentent le nombre de neurones marqués chez les animaux ENTO. L'ANOVA révèle un effet du facteur Traitement ($F(3,24)=8,98$, $p<0,001$), mais pas du facteur Lésion ($F(1,24)=0,89$, ns), ni de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(3,24)=1,37$, ns). L'analyse *post-hoc* sur le facteur Traitement indique que les groupes sous halopéridol, sous olanzapine et sous clozapine diffèrent du groupe sous solvant ($p<0,05$ au moins). De plus, le groupe sous halopéridol diffère du groupe sous olanzapine ($p<0,05$) et tend à différer du groupe sous clozapine ($p=0,07$). L'analyse *post-hoc* de comparaisons multiples entre groupes montre que les animaux PSEUDO sous halopéridol et sous clozapine diffèrent des animaux PSEUDO sous solvant ($p<0,05$ dans les deux cas) et que les animaux ENTO sous halopéridol diffèrent des animaux ENTO sous solvant ($p<0,01$) et tendent à différer des animaux ENTO sous clozapine ($p=0,06$).

Au niveau du **noyau caudé-putamen ventrolatéral** (tableau 18.1), les trois composés augmentent le nombre de neurones marqués chez les animaux PSEUDO et chez les animaux ENTO. L'ANOVA révèle un effet du facteur Traitement ($F(3,24)=55,25$, $p<0,0001$), mais pas du facteur Lésion ($F(1,24)=0,86$, ns), ni de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(3,24)=0,39$, ns). L'analyse *post-hoc* sur le facteur Traitement indique que les groupes sous halopéridol, sous olanzapine et sous clozapine diffèrent du groupe sous solvant ($p<0,05$ au moins). De plus, le groupe sous halopéridol diffère des groupe sous olanzapine et sous clozapine ($p<0,001$ dans les deux cas). Enfin, le groupe sous olanzapine diffère du groupe sous clozapine ($p<0,001$). L'analyse *post-hoc* de comparaisons multiples entre groupes montre que les animaux PSEUDO sous halopéridol et sous olanzapine diffèrent des animaux PSEUDO sous solvant ($p<0,001$ dans les deux cas) et que les animaux ENTO sous halopéridol et sous olanzapine diffèrent des animaux ENTO sous solvant ($p<0,001$ dans les deux cas). De plus, les groupes halopéridol PSEUDO et ENTO diffèrent des groupes olanzapine PSEUDO et ENTO, respectivement ($p<0,01$ et $p=0,05$) et des groupes clozapine PSEUDO et ENTO, respectivement ($p<0,001$ dans les deux cas). Enfin, les groupes clozapine PSEUDO et ENTO diffèrent des groupes olanzapine PSEUDO et ENTO, respectivement ($p<0,01$ dans les deux cas).

Au niveau du **champ CA1 de l'hippocampe** (tableau 18.1), seule la clozapine augmente le nombre de neurones marqués chez les animaux PSEUDO. L'ANOVA révèle un effet du facteur Traitement ($F(3,24)=3,61$, $p<0,05$), mais pas du facteur Lésion ($F(1,24)=0,07$, ns), ni de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(3,24)=2,26$, ns). L'analyse *post-hoc* sur le facteur Traitement indique que les groupes sous clozapine diffèrent des groupes sous halopéridol et sous olanzapine ($p<0,05$ dans les deux cas) et tend à différer du groupe sous solvant ($p=0,05$). L'analyse *post-hoc* de comparaisons multiples entre groupes montre que les animaux PSEUDO sous clozapine tendent à différer des animaux PSEUDO sous solvant ($p=0,08$) et diffèrent des animaux PSEUDO sous olanzapine ($p<0,05$).

Au niveau du **champ CA3 de l'hippocampe** (tableau 18.1), aucun des composés n'affecte le nombre de neurones marqués comme le confirme l'ANOVA qui ne révèle aucun effet des facteurs Traitement ($F(3,24)=0,67$, ns), Lésion ($F(1,24)=0,02$, ns), ni de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(3,24)=2,29$, ns).

Au niveau du **gyrus denté** (tableau 18.1), seule la clozapine augmente le nombre de neurones marqués chez les animaux PSEUDO. L'ANOVA révèle un effet du facteur Traitement ($F(3,24)=9,91$, $p<0,001$), mais pas du facteur Lésion ($F(1,24)=1,07$, ns), ni de

l'interaction entre ces deux facteurs ($F(3,24)=1,39$, ns). L'analyse *post-hoc* sur le facteur Traitement indique que le groupe sous clozapine diffère des groupes sous solvant, sous halopéridol et sous olanzapine ($p<0,01$, $p<0,001$ et $p=0,05$ respectivement). De plus le groupe sous halopéridol diffère du groupe sous olanzapine ($p<0,05$) et tend à différer dur groupe sous solvant ($p=0,09$). L'analyse *post-hoc* de comparaisons multiples entre groupes montre que les animaux PSEUDO sous clozapine tendent à différer des animaux PSEUDO sous solvant ($p=0,07$) et diffèrent des animaux PSEUDO sous halopéridol ($p<0,05$). De plus les animaux ENTO sous halopéridol diffèrent des animaux ENTO sous olanzapine et sous clozapine ($p<0,05$ et $p<0,01$, respectivement).

Au niveau de **l'amygdale centrale** (figure 18.4), l'olanzapine et la clozapine augmentent le nombre de neurones marqués chez les animaux PSEUDO et chez les animaux ENTO. L'ANOVA révèle un effet du facteur Traitement ($F(3,24)=25,65$, $p<0,0001$), mais pas du facteur Lésion ($F(1,24)=2,17$, ns), ni de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(3,24)=0,45$, ns). L'analyse *post-hoc* sur le facteur Traitement indique que les groupes sous olanzapine et sous clozapine diffèrent des groupes sous solvant et sous halopéridol ($p<0,001$ dans tous les cas). De plus le groupe sous clozapine diffère du groupe sous olanzapine ($p<0,05$). L'analyse *post-hoc* de comparaisons multiples entre groupes montre que les animaux PSEUDO sous olanzapine et sous clozapine diffèrent des animaux PSEUDO sous solvant et sous halopéridol ($p<0,05$ au moins) et que les animaux ENTO sous olanzapine et sous clozapine diffèrent des animaux ENTO sous solvant et sous halopéridol ($p<0,05$ au moins).

Au niveau de **l'amygdale latérale** (tableau 18.1), seule la clozapine augmentent le nombre de neurones marqués chez les animaux PSEUDO. L'ANOVA révèle un effet du facteur Traitement ($F(3,24)=6,34$, $p<0,01$), mais pas du facteur Lésion, bien que celui-ci soit proche d'être significatif ($F(1,24)=3,12$, $p=0,09$), ni de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(3,24)=1,79$, ns). L'analyse *post-hoc* sur le facteur Traitement indique que le groupe sous clozapine diffère des groupes sous solvant, sous halopéridol et sous olanzapine ($p<0,01$ dans tous les cas). L'analyse *post-hoc* de comparaisons multiples entre groupes montre que les animaux PSEUDO sous clozapine diffèrent des animaux PSEUDO sous solvant, sous halopéridol et sous olanzapine ($p<0,05$ au moins), mais également des animaux ENTO sous clozapine ($p<0,05$).

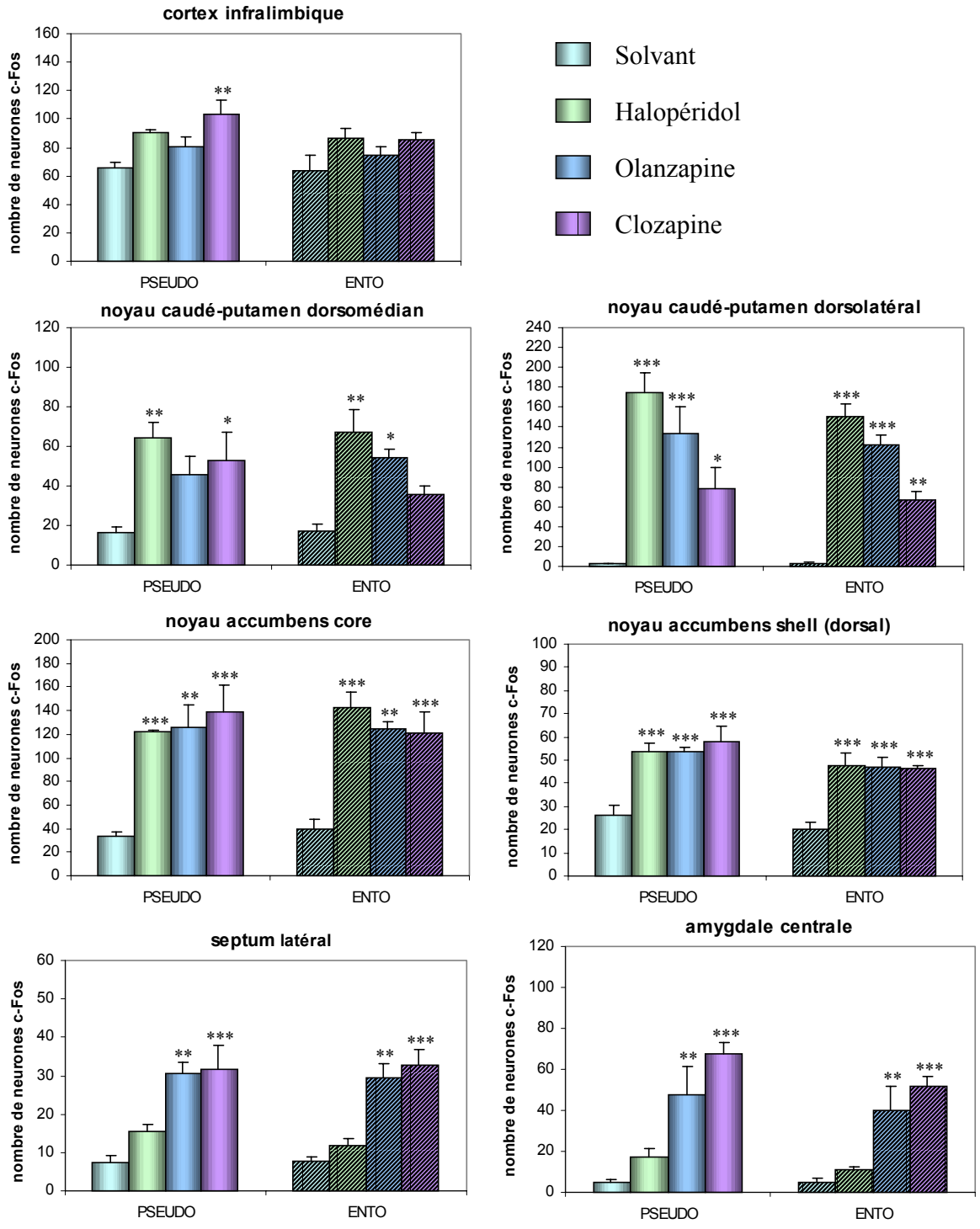


Figure 18.4 : Effet de la lésion du cortex entorhinal sur l'expression du gène *c-fos* induite par l'halopéridol, l'olanzapine et la clozapine. Moyenne (± erreur type) du nombre de neurones exprimant c-Fos. * : $p<0,05$; ** : $p<0,01$ et *** : $p<0,001$ par rapport au groupe sous solvant de la même condition chirurgicale.

	solvant		halopéridol		olanzapine		clozapine	
	PSEUDO	ENTO	PSEUDO	ENTO	PSEUDO	ENTO	PSEUDO	ENTO
PrL	80,7 ± 3,4	79,7 ± 15,9	102,7 ± 6,2	90,1 ± 9,1	85,3 ± 10,8	84,5 ± 4,1	124,4 ± 16,5	87,9 ± 5,9
Cg	42,1 ± 3,0	37,1 ± 8,8	52,0 ± 6,3	38,5 ± 9,3	51,5 ± 5,6	43,0 ± 5,2	76,0 ± 17,8	49,9 ± 2,0
shell m	28,1 ± 5,4	25,6 ± 3,9	78,5 ± 4,4 ***	74,9 ± 8,2 ***	57,0 ± 6,7 ***	62,0 ± 2,4 ***	66,2 ± 5,1 ***	58,0 ± 2,3 **
shell v	19,0 ± 4,3	16,3 ± 3,8	23,0 ± 3,3	18,9 ± 2,8	14,5 ± 4,0	15,4 ± 2,6	23,4 ± 5,7	16,9 ± 1,0
CPu vm	38,3 ± 5,0	37,7 ± 10,3	94,5 ± 7,3 *	107,4 ± 19,2 **	80,5 ± 14,1	70,7 ± 3,1	90,1 ± 17,6 *	55,1 ± 10,7
CPu vl	3,4 ± 1,1	4,1 ± 1,8	209,4 ± 17,8 ***	178,3 ± 16,4 ***	124,7 ± 32,2 ***	122,3 ± 16,2 ***	47,7 ± 12,4	38,2 ± 6,2
CA1	4,9 ± 0,4	5,6 ± 1,9	4,5 ± 1,4	4,3 ± 0,8	3,8 ± 1,0	7,6 ± 0,9	10,1 ± 1,9	7,0 ± 1,6
CA3	2,3 ± 0,4	2,8 ± 0,3	1,7 ± 0,3	2,5 ± 0,7	1,8 ± 0,4	2,3 ± 0,7	3,4 ± 0,7	1,8 ± 0,3
DG	3,0 ± 0,7	2,6 ± 0,4	2,4 ± 0,7	0,8 ± 0,4	3,2 ± 0,7	4,2 ± 0,5	5,5 ± 1,2	4,6 ± 0,2
Amy lat	9,8 ± 1,1	10,0 ± 1,7	13,1 ± 1,1	10,6 ± 0,5	10,6 ± 1,8	10,9 ± 1,5	20,0 ± 3,4 **	13,4 ± 0,8

Tableau 18.1 : Effet de la lésion du cortex entorhinal sur l'expression du gène *c-fos* induite par l'halopéridol, l'olanzapine et la clozapine. Moyenne (± erreur type) du nombre de neurones exprimant c-Fos. * : p<0,05 ; ** : p<0,01 et *** : p<0,001 par rapport au groupe sous solvant de la même condition chirurgicale. Abréviations : PrL, cortex prélimbique ; Cg, cortex cingulaire ; shell m, partie médiane du noyau accumbens *shell* ; shell v, partie ventrale du noyau accumbens *shell* ; CPu vm, noyau caudé-putamen ventromédian ; CPu vl, noyau caudé-putamen ventrolatéral ; CA1, champ CA1 de l'hippocampe ; CA3, champ CA3 de l'hippocampe ; DG, gyrus denté ; Amy lat, amygdale latérale.

	halopéridol		olanzapine		clozapine	
	PSEUDO	ENTO	PSEUDO	ENTO	PSEUDO	ENTO
PrL	-	-	-	-	-	-
IL	-	-	-	-	++	-
Cg	-	-	-	-	-	-
SL	-	-	++	++	++	++
shell d	++	++	++	++	++	++
shell m	++	++	++	++	++	++
shell v	-	-	-	-	-	-
core	++	++	++	++	++	++
CPu dm	++	++	-	++	++	-
CPu dl	+++	+++	+++	+++	++	++
CPu vm	++	++	-	-	++	-
CPu vl	+++	+++	++	++	-	-
CA1	-	-	-	-	-	-
CA3	-	-	-	-	-	-
DG	-	-	-	-	-	-
CA	-	-	++	++	++	++
LA	-	-	-	-	+	-

Tableau 18.2 : Récapitulatif des effets de la lésion du cortex entorhinal sur l'expression du gène *c-fos* induite par l'halopéridol, l'olanzapine et la clozapine. - : absence d'induction ; + : faible induction ; ++ : forte induction ; +++ : très forte induction. Abréviations : PrL, cortex prélimbique ; IL, cortex infralimbique ; Cg, cortex cingulaire ; SL, septum latéral ; shell d, noyau accumbens *shell* partie dorsale ; shell m, noyau accumbens *shell* partie médiane ; shell v, noyau accumbens *shell* partie ventrale ; core, noyau accumbens *core* ; CPu dm, noyau caudé-putamen dorsomédian ; CPu dl, noyau caudé-putamen dorsolatéral; CPu vm, noyau caudé-putamen ventromédian ; CPu vl, noyau caudé-putamen ventrolatéral ; CA1, champ CA1 de l'hippocampe ; CA3, champ CA3 de l'hippocampe ; DG, gyrus denté ; CA, amygdale centrale ; LA, amygdale latérale.

Phénotype des neurones exprimant c-Fos

L'immunoréactivité c-Fos est visualisée au niveau du noyau par un marquage noir, alors que l'immunoréactivité met-enképhaline apparaît en brun, sous la forme d'un réseau de fibres, avec les corps cellulaires marqués (figure 18.5).

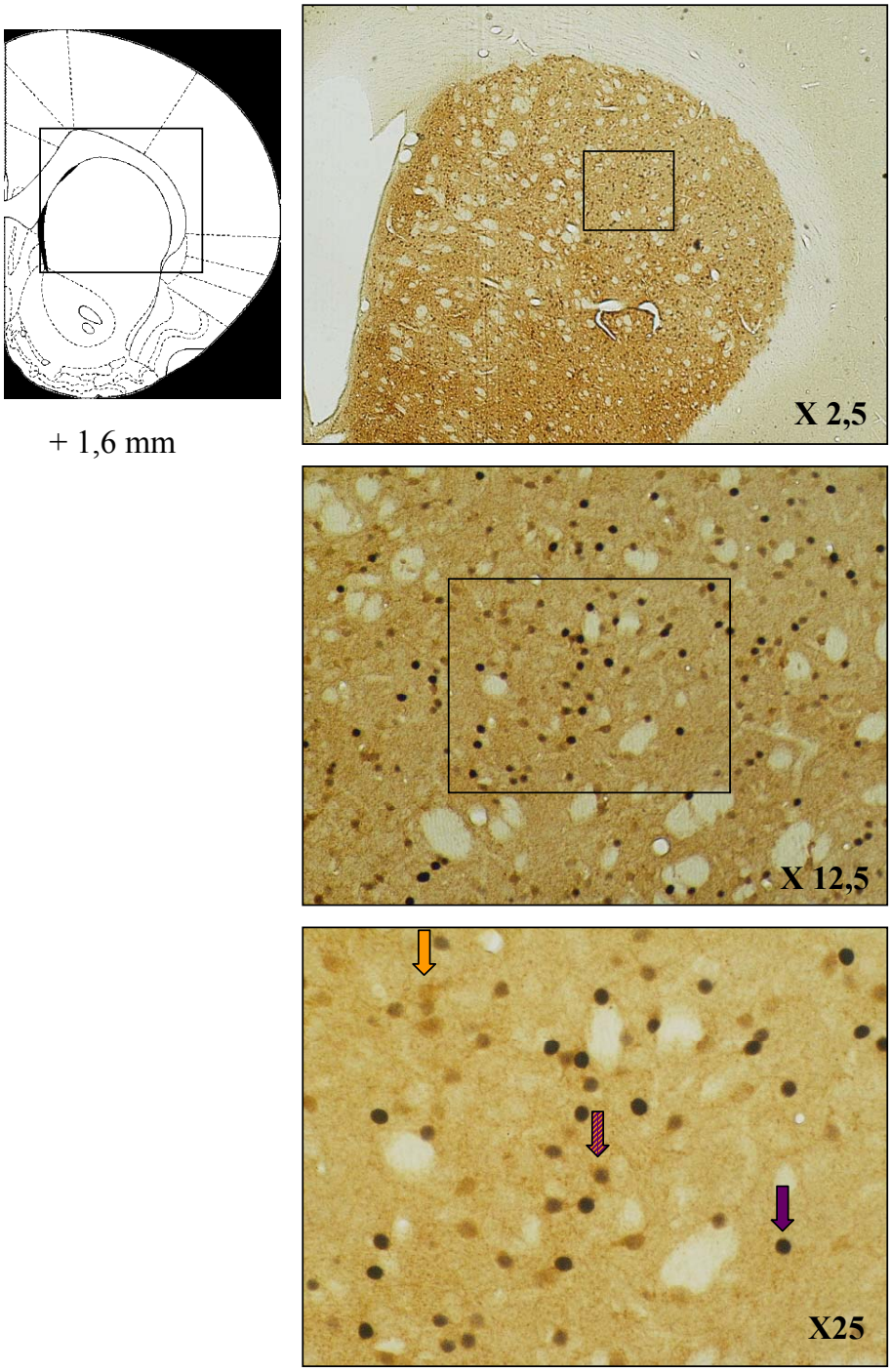


Figure 18.5 : Photographies (grossissements croissants) prises au niveau de l'aire délimitée sur le schéma de gauche (adapté de Paxinos et Watson, 1998) d'une coupe frontale d'un cerveau d'un animal du groupe PSEUDO-HALO. La flèche orange indique un neurone exprimant la Met-enképhaline mais pas la protéine c-Fos, la flèche violette indique un neurone exprimant la protéine c-Fos mais pas la Met-enképhaline et la flèche bicolore indique un neurone doublement marqué.

Seuls les résultats pour les régions striatales sont présentés, les autres régions (à l'exception de l'amygdale centrale) présentant un nombre très réduit de neurones exprimant la met-enképhaline. Dans l'ensemble des régions striatales, ni les traitements ni la lésion du cortex entorhinal ne modifient le nombre de neurones exprimant la Met-enk (tableau 18.3). Les ANOVA ne révèle aucun effet des facteurs Traitement ($F(3,24)=2,13$, ns, $F(3,24)=2,67$, $p=0,07$, $F(3,24)=0,06$, ns, $F(3,24)=2,36$, ns, $F(3,24)=0,91$, ns, $F(3,24)=2,93$, $p=0,05$, $F(3,24)=0,34$, ns et $F(3,24)=1,11$, ns, pour les parties dorsale, médiane et ventrale du noyau accumbens *shell*, la partie *core* du noyau accumbens et les noyaux caudé-putamen dorsomédian, dorsolatéral, ventromédian et ventrolatéral, respectivement), Lésion ($F(1,24)=0,01$, ns, $F(1,24)=0,01$, ns, $F(1,24)=0,48$, ns, $F(1,24)=2,94$, ns, $F(1,24)=0,42$, ns, $F(1,24)=10,18$, $p<0,01$, $F(1,24)=1,36$, ns et $F(1,24)=4,79$, $p<0,05$, pour les parties dorsale, médiane et ventrale du noyau accumbens *shell*, la partie *core* du noyau accumbens et les noyaux caudé-putamen dorsomédian, dorsolatéral, ventromédian et ventrolatéral, respectivement), ni de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(3,24)=0,38$, ns, $F(3,24)=0,38$, ns, $F(3,24)=0,93$, ns, $F(3,24)=0,28$, ns, $F(3,24)=0,84$, ns, $F(3,24)=1,12$, ns, $F(3,24)=1,81$, ns et $F(3,24)=1,54$, ns, pour les parties dorsale, médiane et ventrale du noyau accumbens *shell*, la partie *core* du noyau accumbens et les noyaux caudé-putamen dorsomédian, dorsolatéral, ventromédian et ventrolatéral, respectivement).

	solvant		halopéridol		olanzapine		clozapine	
	PSEUDO	ENTO	PSEUDO	ENTO	PSEUDO	ENTO	PSEUDO	ENTO
shell d	32,8 ± 5,9	34,4 ± 1,8	24,3 ± 2,6	27,9 ± 2,7	29,5 ± 3,6	29,1 ± 4,8	27,4 ± 2,6	23,7 ± 2,6
shell m	79,4 ± 8,2	82,8 ± 8,0	66,0 ± 5,4	73,3 ± 3,7	68,9 ± 6,3	66,5 ± 9,8	71,6 ± 5,4	50,9 ± 8,4
shell v	48,3 ± 13,6	53,5 ± 5,4	57,3 ± 3,7	38,0 ± 3,9	48,7 ± 8,2	52,5 ± 5,1	52,9 ± 11,8	47,1 ± 8,4
core	184,6 ± 12,4	179,8 ± 9,2	173,9 ± 11,9	166,6 ± 7,1	174,3 ± 6,3	155,0 ± 14,8	164,7 ± 7,3	144,6 ± 12,4
CPu dm	122,8 ± 10,6	132,2 ± 8,6	121,7 ± 3,0	110,7 ± 7,0	120,2 ± 5,4	118,0 ± 6,6	125,4 ± 5,7	116,2 ± 7,6
CPu dl	146,3 ± 6,6	141,5 ± 4,3	132,7 ± 6,3	122,7 ± 4,4	1143,6 ± 1,5	118,2 ± 4,7	138,2 ± 6,0	125,5 ± 9,7
CPu vm	151,4 ± 13,5	171,9 ± 10,7	158,5 ± 8,6	146,4 ± 7,3	165,9 ± 5,7	143,8 ± 15,2	162,8 ± 11,8	142,1 ± 7,0
CPu vl	192,8 ± 14,9	195,6 ± 10,1	181,3 ± 4,3	173,7 ± 6,5	195,5 ± 10,2	178,3 ± 7,7	202,3 ± 9,5	166,9 ± 7,0

Tableau 18.3 : Moyenne (± erreur type) du nombre de neurones exprimant la Met-enk. Abréviations : shell d, partie dorsale du noyau accumbens *shell* ; shell m, partie médiane du noyau accumbens *shell* ; shell v, partie ventrale du noyau accumbens *shell* ; core, noyau accumbens *core* ; CPu dm, noyau caudé-putamen dorsomédian ; CPu dl, noyau caudé-putamen dorsolatéral ; CPu vm, noyau caudé-putamen ventromédian ; CPu vl, noyau caudé-putamen ventrolatéral.

Au niveau de **la partie dorsale du noyau accumbens *shell*** (figure 18.6), les trois composés n'induisent que très rarement l'expression de c-Fos dans les neurones exprimant la Met-enk (4 à 11% de neurones doublement marqués). Ce patron n'est pas affecté par la lésion du cortex entorhinal. L'ANOVA sur le nombre de neurones doublement marqués ne révèle aucun effet des facteurs Traitement ($F(3,24)=1,73$, ns), Lésion ($F(1,24)=0,29$, ns) mais par contre un effet de l'interaction entre ces deux facteurs ($F3,24)=3,65$, $p<0,05$). L'analyse *post-hoc* sur l'interaction montre que les animaux ENTO sous halopéridol diffèrent des animaux ENTO sous solvant et des animaux PSEUDO sous halopéridol ($p=0,05$ dans les deux cas).

Au niveau de **la partie médiane du noyau accumbens *shell*** (figure 18.6), les trois composés n'induisent que très rarement l'expression de c-Fos dans les neurones exprimant la Met-enk (6 à 12% de neurones doublement marqués). Ce patron n'est pas affecté par la lésion du cortex entorhinal, à l'exception d'une augmentation du nombre de neurones doublement marqués chez les animaux lésés sous halopéridol. L'ANOVA sur le nombre de neurones doublement marqués révèle un effet du facteur Traitement ($F(3,24)=6,90$, $p<0,01$), mais pas du facteur Lésion ($F(1,24)=0,00$, ns), ni de l'interaction entre ces deux facteurs ($F3,24)=1,87$, ns). L'analyse *post-hoc* sur le facteur Traitement indique que les groupes sous halopéridol diffèrent des groupes sous solvant, sous olanzapine et sous clozapine ($p<0,05$ au moins). L'analyse *post-hoc* de comparaisons multiples entre groupes montre que les animaux ENTO sous halopéridol diffèrent des animaux ENTO sous solvant, sous olanzapine et sous clozapine ($p<0,05$ au moins) et des animaux PSEUDO sous halopéridol ($p=0,05$).

Au niveau de **la partie ventrale du noyau accumbens *shell*** (figure 18.6), seul l'halopéridol augmente l'expression de c-Fos, chez les animaux PSEUDO mais pas chez les animaux ENTO, et ce dans les neurones exprimant la Met-enk (23% de neurones doublement marqués). L'ANOVA sur le nombre de neurones doublement marqués révèle un effet du facteur Traitement ($F(3,24)=3,55$, $p<0,05$), mais pas du facteur Lésion ($F(1,24)=0,67$, ns), ni de l'interaction entre ces deux facteurs ($F3,24)=2,00$, ns). L'analyse *post-hoc* sur le facteur Traitement indique que les groupes sous halopéridol diffèrent des groupes sous solvant, sous olanzapine et sous clozapine ($p<0,05$ dans tous les cas). L'analyse *post-hoc* de comparaisons multiples entre groupes montre que les animaux PSEUDO sous halopéridol diffèrent des animaux PSEUDO sous solvant, sous olanzapine et sous clozapine ($p<0,05$, $p<0,05$ et $p=0,05$ respectivement) et tendent à différer des animaux ENTO sous halopéridol ($p=0,08$).

Au niveau du **noyau accumbens *core*** (figure 18.6), seul l'halopéridol induit l'expression de c-Fos dans les neurones exprimant la Met-enk (17 et 20% de neurones doublement

marqués), ce patron n'étant pas affecté par la lésion du cortex entorhinal. L'ANOVA sur le nombre de neurones doublement marqués révèle un effet du facteur Traitement ($F(3,24)=12,65$, $p<0,0001$), mais pas du facteur Lésion ($F(1,24)=0,00$, ns), ni de l'interaction entre ces deux facteurs ($F3,24)=2,07$, ns). L'analyse *post-hoc* sur le facteur Traitement indique que les groupes sous halopéridol diffèrent des groupes sous solvant, sous olanzapine et sous clozapine ($p<0,01$ au moins) et que les groupes sous olanzapine diffère des groupes sous solvant ($p<0,05$). L'analyse *post-hoc* de comparaisons multiples entre groupes montre que les animaux PSEUDO et ENTO sous halopéridol diffèrent des animaux PSEUDO et ENTO sous solvant ($p<0,05$ et $p<0,001$, respectivement). De plus le groupe ENTO sous halopéridol diffère des groupes ENTO sous olanzapine et sous clozapine ($p<0,05$ et $p<0,01$, respectivement) et tendent à différer des animaux PSEUDO sous halopéridol ($p=0,08$).

Au niveau du **noyau caudé-putamen dorsomédian** (figure 18.6), les trois composés induisent l'expression de c-Fos dans les neurones exprimant la Met-enk, cet effet étant plus marqué pour l'halopéridol (45 et 49% de neurones doublement marqués). Ce patron n'est pas affecté par la lésion du cortex entorhinal. L'ANOVA sur le nombre de neurones doublement marqués révèle un effet du facteur Traitement ($F(3,24)=14,99$, $p<0,0001$), mais pas du facteur Lésion ($F(1,24)=0,03$, ns), ni de l'interaction entre ces deux facteurs ($F3,24)=0,16$, ns). L'analyse *post-hoc* sur le facteur Traitement indique que les groupes sous halopéridol diffèrent des groupes sous solvant, sous olanzapine et sous clozapine ($p<0,01$ au moins) et que les groupes sous olanzapine diffère des groupes sous solvant ($p<0,05$). L'analyse *post-hoc* de comparaisons multiples entre groupes montre que les animaux PSEUDO et ENTO sous halopéridol diffèrent des animaux PSEUDO et ENTO sous solvant ($p<0,01$ dans les deux cas). De plus le groupe PSEUDO sous halopéridol diffère des groupes PSEUDO sous clozapine ($p<0,05$) et tend à différer des animaux PSEUDO sous olanzapine ($p=0,06$). Enfin, le groupe ENTO sous halopéridol diffère des groupes PSEUDO sous olanzapine et sous clozapine ($p<0,05$ et $p<0,01$, respectivement).

Au niveau du **noyau caudé-putamen dorsolatéral** (figure 18.6), les trois composés induisent l'expression de c-Fos dans les neurones exprimant la Met-enk (41 à 51% de neurones doublement marqués). Ce patron n'est pas affecté par la lésion du cortex entorhinal. L'ANOVA sur le nombre de neurones doublement marqués révèle un effet du facteur Traitement ($F(3,24)=49,68$, $p<0,0001$), mais pas du facteur Lésion ($F(1,24)=3,01$, ns), ni de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(3,24)=0,98$, ns). L'analyse *post-hoc* sur le facteur Traitement indique que les groupes sous halopéridol, sous olanzapine et sous clozapine

différent du groupe sous solvant ($p<0,001$ dans tous les cas). De plus, le groupe sous halopéridol diffère du groupe sous clozapine ($p<0,001$) et tend à différer du groupe sous olanzapine ($p=0,07$). Enfin, le groupe sous olanzapine diffère du groupe sous clozapine ($p<0,001$). L'analyse *post-hoc* de comparaisons multiples entre groupes montre que les animaux PSEUDO sous halopéridol, sous olanzapine et sous clozapine différent des animaux PSEUDO sous solvant ($p<0,05$ au moins) et que les animaux ENTO sous halopéridol, sous olanzapine et sous clozapine diffèrent des animaux ENTO sous solvant ($p<0,01$ au moins). De plus, les groupes clozapine PSEUDO et ENTO diffèrent des groupes halopéridol PSEUDO et ENTO, respectivement ($p<0,01$ au moins) et des groupes olanzapine PSEUDO et ENTO ($p<0,05$ au moins).

Au niveau du **noyau caudé-putamen ventromédian** (figure 18.6), les trois composés induisent l'expression de c-Fos dans les neurones exprimant la Met-enk, cet effet étant plus marqué pour l'halopéridol (35 et 38% de neurones doublement marqués). Ce patron n'est pas affecté par la lésion du cortex entorhinal. L'ANOVA sur le nombre de neurones doublement marqués révèle un effet du facteur Traitement ($F(3,24)=11,86$, $p<0,0001$), mais pas du facteur Lésion ($F(1,24)=0,27$, ns), ni de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(3,24)=0,18$, ns). L'analyse *post-hoc* sur le facteur Traitement indique que les groupes sous halopéridol diffèrent des groupes sous solvant, sous olanzapine et sous clozapine ($p<0,01$ au moins). L'analyse *post-hoc* de comparaisons multiples entre groupes montre que les animaux PSEUDO sous halopéridol diffèrent des animaux PSEUDO sous solvant, sous olanzapine et sous clozapine ($p<0,05$ au moins) et que les animaux ENTO sous halopéridol diffèrent des animaux ENTO sous solvant, sous olanzapine et sous clozapine ($p<0,05$ dans tous les cas).

Au niveau du **noyau caudé-putamen ventrolatéral** (figure 18.6), les trois composés induisent l'expression de c-Fos dans les neurones exprimant la Met-enk, cet effet étant plus marqué pour l'halopéridol et l'olanzapine (44 à 52% de neurones doublement marqués). Ce patron n'est pas affecté par la lésion du cortex entorhinal, à l'exception d'une diminution du nombre de neurones doublement marqués chez les animaux ENTO sous halopéridol. L'ANOVA sur le nombre de neurones doublement marqués révèle un effet du facteur Traitement ($F(3,24)=49,08$, $p<0,0001$), mais pas du facteur Lésion ($F(1,24)=1,92$, ns), ni de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(3,24)=1,35$, ns). L'analyse *post-hoc* sur le facteur Traitement indique que les groupes sous halopéridol diffèrent des groupes sous solvant, sous olanzapine et sous clozapine ($p<0,01$ au moins). L'analyse *post-hoc* de comparaisons multiples entre groupes montre que les animaux PSEUDO sous halopéridol et sous olanzapine

différent des animaux PSEUDO sous solvant ($p<0,001$ dans les deux cas) et que les animaux ENTO sous halopéridol et sous olanzapine diffèrent des animaux ENTO sous solvant ($p<0,001$ dans les deux cas). De plus le groupe PSEUDO sous halopéridol diffère des groupes PSEUDO sous olanzapine et sous clozapine ($p<0,01$ au moins) et du groupe ENTO sous halopéridol ($p<0,05$). Enfin, le groupe PSEUDO sous olanzapine diffère du groupe PSEUDO sous clozapine ($p<0,01$) et le groupe ENTO sous halopéridol diffère du groupe ENTO sous clozapine ($p<0,001$).

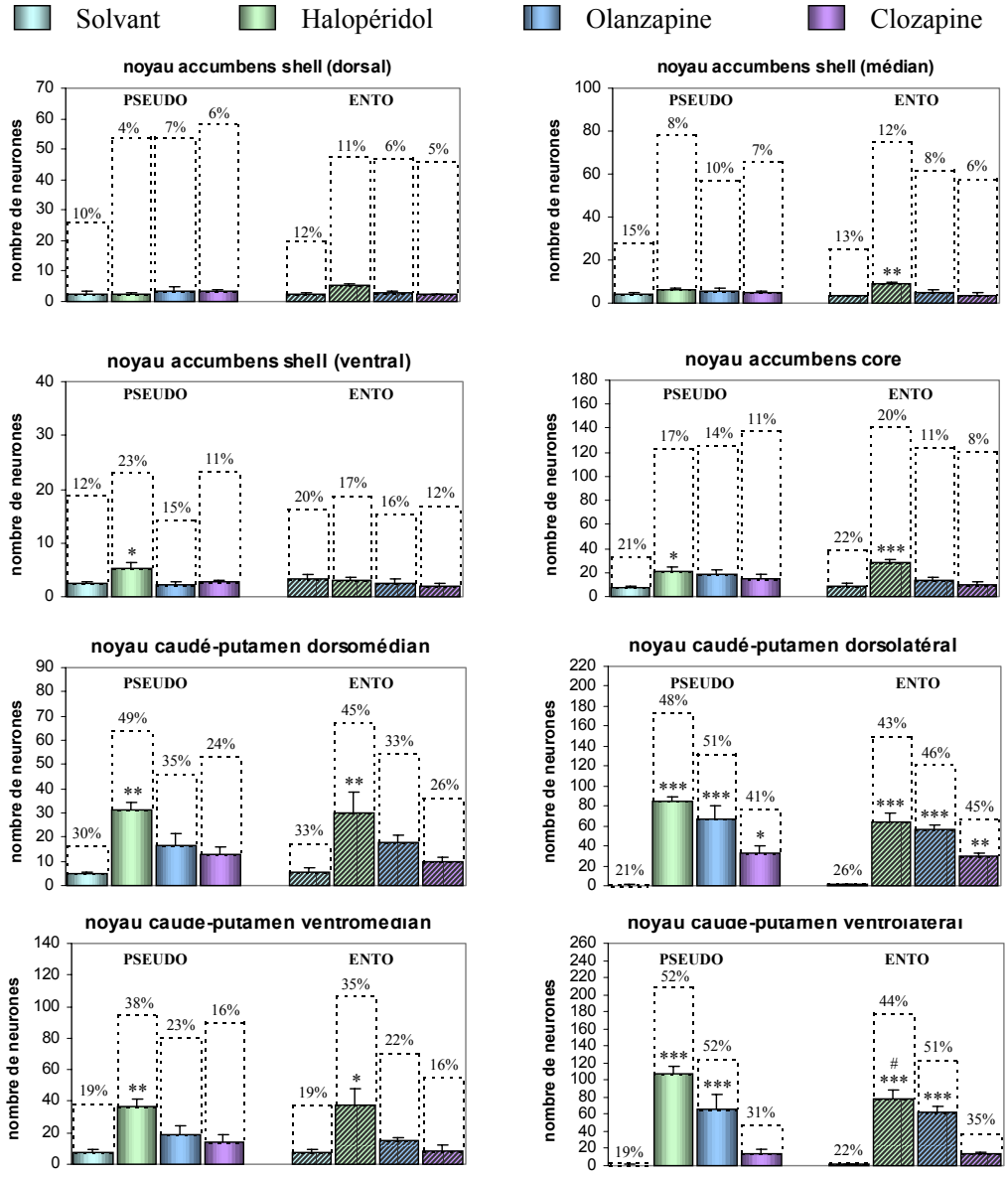


Figure 18.6 : Moyenne (± erreur type) du nombre de neurones doublement marqués c-Fos et Met-enk. Les histogrammes en pointillés représentent le nombre de neurones c-Fos totaux. Les pourcentages indiquent la proportion de neurones c-Fos qui sont doublement marqués. * : $p<0,05$; ** : $p<0,01$ et *** : $p<0,001$ par rapport au groupe sous solvant de la même condition chirurgicale et # : $p<0,05$ par rapport au groupe PSEUDO ayant reçu le même traitement.

Discussion

Effet de l'halopéridol, de l'olanzapine et de la clozapine sur l'expression de c-Fos (PSEUDO)

Les résultats de l'expérience montrent que les trois composés augmentent l'expression de c-Fos de façon similaire dans le noyau accumbens (*core*, partie dorsale du *shell* et partie médiane du *shell*) et avec des niveaux différents dans le noyau caudé-putamen (dorsolatéral et ventrolatéral, avec seulement une tendance pour l'olanzapine dans les parties dorsomédiane et ventromédiane et pour la clozapine dans la partie ventrolatérale). De plus, l'olanzapine et la clozapine, mais pas l'halopéridol, augmentent l'expression de c-Fos dans le septum latéral et l'amygdale centrale. Enfin, seule la clozapine entraîne une augmentation du niveau d'expression de c-Fos dans l'amygdale basolatérale et le cortex infralimbique (avec une tendance dans les cortex prélimbique et cingulaire, le gyrus denté et le champ CA1 de l'hippocampe).

Le patron d'activation obtenu avec l'halopéridol est en accord avec celui obtenu dans l'expérience précédente (voir également Ohashi et coll., 1998 ; Sun et coll., 1998), à l'exception de l'absence d'induction significative au niveau du cortex cingulaire et du septum latéral. De plus, il intègre de nouvelles données, avec une induction dans le caudé-putamen ventromédian et ventrolatéral (Hussain et coll., 2001 ; Hussain et coll., 2002 ; Ohashi et coll., 1998), les parties dorsale et médiane du noyau accumbens *shell*, et l'absence d'induction dans les cortex prélimbique et infralimbique (Deutch et Duman, 1996 ; Pinna et Morelli, 1999 ; Pinna et coll., 1999, mais Fink-Jensen et Kristensen, 1994 ; Ohashi et coll., 1998) et la partie ventrale du noyau accumbens *shell*. Le patron d'activation obtenu avec l'olanzapine est également en accord avec celui obtenu dans l'expérience précédente (voir également Cohen et coll., 2003 ; Ohashi et coll., 2000 ; Robertson et Fibiger, 1996 ; Sebens et coll., 1998), à l'exception de l'absence d'induction significative au niveau du cortex cingulaire et le faible niveau d'induction au niveau du noyau caudé-putamen dorsomédian. De plus, il intègre de nouvelles données, avec une induction dans le caudé-putamen ventrolatéral (Sebens et coll., 1998), les parties dorsale et médiane du noyau accumbens *shell*, et l'absence d'induction dans les cortex prélimbique et infralimbique (en désaccord avec Ohashi et coll., 2000 ; Robertson et Fibiger, 1996) et la partie ventrale du noyau accumbens *shell*. Le patron d'activation induit

par la clozapine, qui est certes plus étendu que celui obtenu avec l'halopéridol, ressemble à celui obtenu avec l'olanzapine, à l'exception près que la clozapine augmente également l'expression de c-Fos dans l'amygdale basolatérale et le cortex infralimbique. Dans l'ensemble, les résultats obtenus avec la clozapine sont en accord avec les données publiées (Pinna et coll., 1999 ; Sebens et coll., 1996) et étendent le champ d'investigation, notamment au niveau de l'amygdale basolatérale. Alors que la dissociation d'effet entre l'halopéridol et la clozapine a déjà été décrite (Guo et coll., 1998 ; Robertson et Fibiger, 1992 ; Sebens et coll., 1996 ; Vahid-Ansari et Robertson, 1996), celle entre l'olanzapine et la clozapine (notamment au niveau des cortex infralimbique et prélimbique) est plus inattendue. En effet, l'olanzapine a été décrite comme augmentant l'expression de c-Fos dans le cortex préfrontal médian (prélimbique et infralimbique ; Ohashi et coll., 2000 ; Robertson et Fibiger, 1996 ; Sebens et coll., 1998). De plus, il existe une tolérance croisée dans cette région entre la clozapine et l'olanzapine (Sebens et coll., 1998), en accord avec le fait que ces deux composés présentent des profils pharmacologiques très similaires, bien que non identiques (Bymaster et coll., 1997).

Selon les patrons d'activation induits par les trois composés, il est possible de regrouper l'ensemble des structures considérées en 3 catégories. La première catégorie regroupe les structures dans lesquelles les trois composés augmentent l'expression de c-Fos, et ce de façon similaire. Elle comprend la partie *core* du noyau accumbens, la partie dorsale du noyau accumbens *shell* et la partie médiane du noyau accumbens *shell* (pourraient également s'intégrer à cette première catégorie, mais dans une moindre mesure, le noyau caudé-putamen dorsomédian, voire le noyau caudé-putamen ventromédian). La deuxième catégorie regroupe les structures dans lesquelles les trois composés augmentent l'expression de c-Fos, mais avec des niveaux d'induction différents. C'est le cas dans le noyau caudé-putamen dorsolatéral et ventrolatéral, avec une induction préférentielle par l'halopéridol, puis l'olanzapine et enfin la clozapine. La troisième catégorie regroupe les structures dans lesquelles seuls les antipsychotiques atypiques (olanzapine et/ou clozapine) augmentent l'expression de c-Fos. Cette dernière comprend des structures commune aux deux composés, avec le septum latéral, l'amygdale centrale, mais également des structures où seule la clozapine présente un effet, avec le cortex infralimbique, l'amygdale basolatérale (l'on pourrait également y intégrer, mais dans une moindre mesure, les cortex prélimbique et cingulaire, le gyrus denté et le champ CA1 de l'hippocampe). En accord avec l'hypothèse selon laquelle le noyau accumbens sous-

tendrait l'efficacité clinique des antipsychotiques, cette structure (*core* et *shell*) se retrouve dans la première catégorie. Dans une étude menée par Robertson et collaborateurs (Robertson et coll., 1994), il a en effet été montré que le noyau accumbens était une cible commune à tous les antipsychotiques testés. Il est d'ailleurs intéressant de noter que cette même étude soulevait l'importance du noyau caudé-putamen médian (présent également dans notre première catégorie) et du septum latéral. L'absence de cette dernière structure dans la première catégorie est d'autant plus troublante que cette structure est la seule dans laquelle les trois composés présentent une tolérance croisée (Sebens et coll., 1998). Les données obtenues au niveau du noyau caudé-putamen latéral (deuxième catégorie) s'accordent bien avec le lien existant entre l'expression de c-Fos induite par les antipsychotiques dans cette structure et leur propension à produire des effets secondaires extrapyramidaux (Robertson et coll., 1994). Enfin, l'expression de c-Fos dans les structures de la troisième catégorie, elle serait prédictive de l'efficacité des composés vis à vis des symptômes négatifs de la schizophrénie (pour l'induction au niveau du cortex préfrontal : Deutch et Duman, 1996 ; Robertson et Fibiger, 1992 ; Robertson et coll., 1994 et pour l'induction au niveau de l'amygdale Pinna et Morelli, 1999).

Phénotype des neurones ciblés par les trois composés (PSEUDO)

Les résultats de l'expérience montrent que l'halopéridol augmente l'expression de c-Fos à part égale dans les deux populations de neurones dans le noyau caudé-putamen (48%, 49% et 52% dans les parties dorsolatérale, dorsomédiane et ventrolatérale, respectivement ; pourcentage de neurones exprimant la met-enképhaline), de façon préférentielle dans les neurones n'exprimant pas la met-enképhaline dans les noyaux accumbens *core* (83%) et caudé-putamen ventromédian (62%) et de façon exclusive dans les neurones n'exprimant pas la met-enképhaline dans la partie *shell* du noyau accumbens (96% et 92% dans la partie dorsale et la partie médiane, respectivement). L'olanzapine augmente l'expression de c-Fos à part égale dans les deux populations de neurones dans le noyau caudé-putamen dorsolatéral (51% ; pourcentage de neurones exprimant la met-enképhaline) et ventrolatéral (52% ; pourcentage de neurones exprimant la met-enképhaline) et de façon exclusive dans les neurones n'exprimant pas la met-enképhaline dans le noyau accumbens (86%, 93% et 90% dans le *core*, la partie dorsale du *shell* et la partie médiane du *shell*, respectivement). Quant à la clozapine, elle cible exclusivement les neurones n'exprimant pas la met-enképhaline, et ce

dans toutes les régions considérées, à l'exception du noyau caudé-putamen dorsolatéral, où la part de neurones n'exprimant pas la met-enképhaline n'est que de 60%.

Avant de discuter nos propres résultats, il paraît opportun de présenter quelques données concernant le phénotype des neurones ciblés par les antipsychotiques (halopéridol et/ou clozapine). Dans le noyau caudé-putamen, l'halopéridol semble induire l'expression de c-Fos préférentiellement dans les neurones exprimant la met-enképhaline (Hiroi et coll., 2002, mais Hiroi et Graybiel, 1996), les proportions différants légèrement d'une étude à une autre : 93% (Guo et coll., 1998) et 85% (Robertson et coll., 1992). Au niveau du noyau accumbens, l'halopéridol a été décrit comme ciblant préférentiellement (Hiroi et Graybiel, 1996) ou même exclusivement (dans la partie *shell* du noyau accumbens ; Ma et coll., 2003) les neurones n'exprimant pas la met-enképhaline, alors que d'autres (Guo et coll., 1998) ont montré que 46% des neurones c-Fos étaient enképhalinergiques. En ce qui concerne la clozapine, il a été montré au niveau du noyau caudé-putamen que 63% des neurones activés étaient enképhalinergiques (Carta et Gerfen, 1999), alors que d'autres (Hiroi et Graybiel, 1996) décrivent que la clozapine induit l'expression de c-Fos préférentiellement dans les neurones n'exprimant pas la met-enképhaline, ou tout simplement qu'elle ne présente pas d'effet (Guo et coll., 1998). Au niveau du noyau accumbens, la clozapine a été décrite comme ciblant préférentiellement (Guo et coll., 1998 ; Hiroi et Graybiel, 1996) ou même exclusivement (dans la partie *shell* du noyau accumbens ; Ma et coll., 2003) les neurones n'exprimant pas la met-enképhaline, alors que d'autres (Carta et Gerfen, 1999) ont montré que 65% des neurones activés étaient enképhalinergiques. De plus, l'expression de c-Fos induite par la clozapine au niveau du septum latéral se fait pour 32% dans des neurones enképhalinergiques (Guo et coll., 1998), celle au niveau du cortex préfrontal se fait pour 10% dans des neurones enképhalinergiques (Guo et coll., 1998) et celle au niveau de l'amygdale centrale se fait exclusivement dans des neurones n'exprimant pas la met-enképhaline (Ma et coll., 2003).

Dans l'ensemble nos résultats avec l'halopéridol et la clozapine sont donc en accord avec ces données, mis à part peut être une sous-estimation du nombre de neurones doublement marqué au niveau du noyau caudé-putamen dans le cas de l'halopéridol. Il est fort possible que ces différences d'estimation proviennent de différences méthodologiques. En effet, contrairement aux études de Guo et collaborateurs (Guo et coll., 1998) ou de Robertson et collaborateurs (Robertson et coll., 1992) qui révèlent l'ARNm de la préproenképhaline A,

dans notre étude, le marquage de la met-enképhaline est réalisée par immunohistochimie (comme dans l'étude de Hiroi et Graybiel, 1996). Avec notre méthode, le marquage est non seulement plus faible au niveau du péricaryon (pouvant entraîner une sous-estimation), mais il y a également un marquage au niveau du neuropile, qui dans des régions fortement innervées peut être à l'origine d'erreurs d'appréciation. La distribution de l'immunoréactivité pour les peptides est couramment décrite chez des animaux ayant reçu un pré-traitement à la colchicine qui bloque le transport intra-axonale des substances liées aux neurotransmetteurs et de ce fait entraîne leur accumulation dans le péricaryon (Veinante et coll., 1997). Néanmoins, un tel pré-traitement n'a pas été réalisé dans cette expérience car il produit une augmentation de l'expression de c-Fos (Gillen et Briski, 1997) et aurait entraîné la confusion dans l'analyse de l'expression de c-Fos découlant de l'action des composés antipsychotiques. Une méthode alternative aurait consisté à utiliser des anticorps dirigés contre le précurseur de la met-enképhaline, la preproenképhaline (Lee et coll., 1997). Nous avons tenté d'utiliser cette approche (résultats non présentés dans ce mémoire), mais les essais ne se sont pas avérés concluant. Néanmoins, il est important de souligner que notre méthode semble fiable, notre expérience ayant fourni des résultats, pour l'halopéridol et la clozapine, en accord avec ceux déjà publiés. Quant à nos données avec l'olanzapine, elles ne peuvent malheureusement être confrontées à d'autres études. Néanmoins, au vu de la tolérance croisée existant entre l'olanzapine et l'halopéridol au niveau des noyaux caudé-putamen et accumbens (Sebens et coll., 1998), on peut s'attendre à l'induction de c-Fos par des mécanismes communs, et donc vraisemblablement dans des cibles neuronales communes. Nos résultats s'accordent avec cette idée, puisque l'olanzapine possède un patron (phénotype des neurones ciblés) similaire à celui de l'halopéridol au niveau des noyaux caudé-putamen et accumbens.

Effet de la lésion du cortex entorhinal sur le pattern d'expression induit par les trois composés

Les résultats de l'expérience montrent que la lésion du cortex entorhinal affecte globalement l'expression de c-Fos dans le noyau accumbens *shell* dorsal, et ce dans des neurones n'exprimant pas la met-enképhaline. De plus, la lésion diminue l'expression de c-Fos induite par la clozapine dans le cortex infralimbique (tendance également au niveau des cortex prélimbique et cingulaire), le noyau caudé-putamen dorsomédian et ventromédian et l'amygdale basolatérale, et ce dans des neurones n'exprimant pas la met-enképhaline.

Le premier point qui mérite d'être discuté concerne l'absence d'effet de la lésion du cortex entorhinal sur l'expression de c-Fos induite par l'halopéridol (et l'olanzapine) au niveau du striatum, à l'exception d'une diminution non significative du nombre de neurones doublement marqués dans le noyau caudé-putamen dorsolatéral et ventrolatéral (de 84 à 64 et de 108 à 78, respectivement). Ce résultat négatif étant particulièrement troublant par rapport à celui obtenu dans l'expérience précédente, plusieurs aspects méritent d'être discutés. Alors que les coordonnées pour les lésions sont les mêmes dans les deux expériences, un volume supérieur de NMDA a été injecté dans la présente expérience, conduisant de fait à des lésions plus massives. Dans ce cas, il semble raisonnable de s'attendre également à des effets plus massifs et non l'inverse (mais voir Swerdlow et coll., 2001). Des différences au niveau lésionnel ne permettant pas de rendre compte de ce résultat, nous sous sommes intéressés aux zones de quantification. Une analyse fine (comparer les figures 1 des deux expériences) n'a pas révélé de différence, à l'exception d'une position plus médiane dans l'expérience précédente (et non contre la commissure antérieure) pour la zone de quantification dans la partie *core* du noyau accumbens. Or, les projections du cortex entorhinal médian pourraient être très légèrement moins denses dans la zone quantifié dans cette expérience (Totterdell et Meredith, 1997). Ceci ne permet cependant pas d'expliquer l'absence d'effet obtenu dans les autres régions considérées. La dernière différence, et la majeure qui plus est, concerne la technique utilisée pour révéler l'expression du gène *c-fos* : le marquage de l'ARNm *c-fos* par hybridation *in situ* dans l'expérience précédente et le marquage de la protéine c-Fos par immunohistochimie dans cette expérience. Bien que l'expression de l'ARNm *c-fos* ait déjà été détectée en l'absence de synthèse de la protéine c-Fos (Hisanaga et coll., 1992), il paraît incertain d'obtenir l'inverse, à savoir une synthèse de la protéine sans expression de l'ARNm. D'un autre côté, il existe plusieurs protéines ("*Fos-Related Antigens*") qui partagent des épitopes avec la protéine c-Fos (Herrera et Robertson, 1996), et qui peuvent être détectées par des anticorps polyclonaux non sélectifs. L'anticorps utilisé dans notre expérience est un anticorps polyclonal produit à partir d'un peptide synthétique sélectionné d'une région conservée du gène *c-fos* humain et il est envisageable que ce dernier ait détecté d'autres protéines que c-Fos. Enfin, une explication alternative serait que notre méthode de quantification (comptage visuel des cellules marquées) ne tient pas compte des différences de densité de marquage entre cellules, donnant ainsi un poids égal à des cellules faiblement ou fortement marquées. Dès lors, il conviendrait d'attribuer les effets obtenus dans l'expérience précédente à une diminution du niveau

d'expression de *c-fos* par neurone et non du nombre de neurones exprimant l'ARNm *c-fos*. Une méthode de quantification basée sur une mesure de densité optique (Rieux et coll., 2002) aurait certainement permis de solutionner ce problème, mais elle n'est pas compatible avec un double marquage (mesure de co-expression). Enfin, en accord avec la dernière proposition, il est intéressant de remarquer qu'en utilisant notre méthode de quantification, l'halopéridol n'affecte pas le marquage de la met-enképhaline, et ce malgré des effets reconnus (voir Angulo et McEwen, 1994 ; Graybiel, 1990).

Malgré ces aspects méthodologiques, nous avons quand même pu observer une diminution du marquage c-Fos induit par la clozapine dans le cortex infralimbique (tendance également au niveau des cortex prélimbique et cingulaire), le noyau caudé-putamen dorsomédian et ventromédian et l'amygdale basolatérale. De plus, la lésion affecte globalement l'expression de c-Fos dans le noyau accumbens *shell* dorsal. Ceci, confronté aux considérations méthodologiques (cf. paragraphe précédent), laisse supposer que la lésion a diminué le nombre de neurones marqués ou plus vraisemblablement que la diminution du niveau de marquage s'est faite dans des neurones à la base faiblement marqués devenant ainsi non détectables lors de la quantification. Cependant, ceci n'explique pas pourquoi ces effets ne sont observables que dans le cas d'une induction par la clozapine, et ce notamment au niveau du noyau caudé-putamen médian, où les trois composés induisent un niveau d'expression similaire. La diminution d'expression produite par la lésion ne concerne que des neurones qui n'expriment pas la met-enképhaline. Néanmoins, bien que notre expérience ne nous renseigne pas sur leur phénotype, ces derniers peuvent être considérés comme étant des neurones exprimant la dynorphine tout au moins au niveau de la partie dorsale du noyau accumbens *shell* (Ma et coll., 2003). Au niveau du cortex préfrontal, les neurones ciblés par la clozapine sont des neurones enképhalinergique à 10% et dynorphynique à 19% (Guo et coll., 1998), le phénotype de la grande majorité des neurones ciblés restant inconnu. Au niveau du noyau caudé-putamen, il semblerait que les neurones ciblés par la clozapine, qui n'expriment pas la met-enképhaline, n'expriment pas non plus la dynorphine B (Hiroi et Graybiel, 1996), laissant également le phénotype de ces neurones inconnus. Quant au niveau de l'amygdale basolatérale, il n'existe pas de données, à notre connaissance, permettant de déterminer le phénotype des neurones ciblés par la clozapine. Cependant, l'halopéridol et l'olanzapine augmentent également l'expression de c-Fos dans des neurones n'exprimant pas la met-enképhaline (au niveau du noyau caudé-putamen) et l'on peut se demander pourquoi cette

expression n'est pas affectée par la lésion (dans cette expérience). Il convient d'admettre que les cibles (récepteurs ou neurones) de la clozapine sont donc plus sensibles aux effets de la lésion. Or, plusieurs études suggèrent que le blocage des récepteurs D_3 par la clozapine pourrait jouer un rôle majeur dans l'induction de c-Fos (Guo et coll., 1995 ; Guo et coll., 1998 ; Vahid-Ansari et Robertson, 1996, mais Carta et Gerfen, 1999), et ce contrairement au blocage des récepteurs D_2 par l'halopéridol. Ainsi, alors que la clozapine et l'halopéridol induisent l'expression de c-Fos dans les neurones enképhalinergique du noyau accumbens dans des proportions similaires (40% et 46%, respectivement ; Guo et coll., 1998), la clozapine, mais pas l'halopéridol, cible préférentiellement des neurones exprimant l'ARNm des récepteurs D_3 (69% et 9%, respectivement ; Guo et coll., 1998). De plus, l'expression de c-Fos induite par la clozapine au niveau du striatum, mais pas celle induite par l'halopéridol, peut être diminuée par un agoniste des récepteurs D_3 (Guo et coll., 1995 ; Vahid-Ansari et Robertson, 1996).

En résumé, les résultats de cette expérience montrent que la lésion du cortex entorhinal modifie l'expression du gène c-fos induite par la clozapine au niveau du cortex préfrontal, du noyau caudé-putamen médian et de l'amygdale basolatérale. Par ailleurs, la lésion du cortex entorhinal diminue le niveau d'expression du gène c-fos au niveau de la partie dorsale du noyau accumbens shell. Dans les régions striatales, ces altérations concernent des neurones qui n'expriment pas la met-enképhaline.

DISCUSSION

Les expériences décrites dans ce chapitre avaient pour but d'évaluer les effets de la lésion du cortex entorhinal sur le fonctionnement du système dopaminergique méso-accumbens. Pour cela, nous avons postulé qu'une altération du fonctionnement du système méso-accumbens pouvait être envisagée au niveau de la libération de dopamine ou au niveau de l'intégration postsynaptique. Sur cette base, nous avons évalué les effets de la lésion du cortex entorhinal dans diverses situations comportementales (ou non) impliquant l'activité dopaminergique au sein du noyau accumbens. Les données obtenues à l'issue de ce chapitre sont les suivantes.

La lésion du cortex entorhinal entraîne une augmentation de l'activité locomotrice induite par la nouveauté (expérience 13), alors qu'elle est généralement décrite comme n'ayant pas d'effet (Coutureau et coll., 1999 ; Coutureau et coll., 2000a ; Good et Honey, 1997 ; Ueki et coll., 1994). L'effet observé dans notre expérience pourrait être attribué à un "niveau" de nouveauté particulièrement élevé et/ou au fait que cette dernière présente une composante légèrement stressante (voir discussion de l'expérience 13), ce qui s'accorderait avec les effets observés dans un *open field* faiblement éclairé (Kurachi et coll., 2000). Dans la mesure où l'activité locomotrice en réponse à un environnement nouveau dépend de la libération de dopamine au sein du noyau accumbens (cf. introduction de ce chapitre), nous proposons que les effets de la lésion du cortex entorhinal ne puissent être mis en évidence que sur la base d'un certain niveau d'activité dopaminergique au sein du noyau accumbens ou autrement formulé, lorsque ce système est fortement sollicité. En accord avec cette proposition, la lésion du cortex entorhinal augmente l'hyperactivité nocturne, mais pas l'activité locomotrice diurne (expérience 13). De même, la lésion du cortex entorhinal augmente l'activité locomotrice induite par la *d*-amphétamine à la concentration de 1 mg/kg, mais pas à la concentration de 0,5 mg/kg (expérience 14 et 16). Ces différents résultats indiquent également que la lésion du cortex entorhinal affecte le fonctionnement du système dopaminergique méso-accumbens, tout au moins lorsque celui-ci est évalué par des mesures du comportement moteur.

La lésion du cortex entorhinal n'affecte pas la préférence de place induite par la *d*-amphétamine (expérience 16), et ce malgré une augmentation (dans la même expérience) des effets moteurs de la *d*-amphétamine à la concentration de 1 mg/kg. Bien que ces deux

comportements dépendent tous deux de la transmission dopaminergique au sein du noyau accumbens (voir introduction de ce chapitre), il existe une dissociation entre l'activité locomotrice et la préférence de place (voir discussion expérience 15). La lésion du cortex entorhinal affectant l'un, mais pas l'autre, de ces comportements, une altération de la transmission dopaminergique (libération de dopamine ; effet présynaptique) peut être écartée au profit d'une modification de l'activité dopaminergique méso-accumbens à un niveau postsynaptique. Il a en effet été montré que la libération de dopamine induite par amphétamine n'était pas affectée par une lésion du cortex entorhinal (Coutureau et coll., 2002). Par ailleurs, nous avons montré que l'expression de l'ARNm *c-fos* induite par l'halopéridol au niveau du noyau accumbens est modifiée par la lésion du cortex entorhinal (expérience 17). Il est d'ailleurs intéressant de noter que cette altération ne se produit pas uniquement au niveau du noyau accumbens, suggérant que la lésion du cortex entorhinal entraîne des altérations fonctionnelles diffuses au sein du système nerveux central, ceci étant compatible avec l'étendue des projections du cortex entorhinal (voir introduction générale). Bien que l'expression de l'ARNm *c-fos* induite par l'halopéridol se produise au niveau postsynaptique dans les neurones épineux de taille moyenne (voir introduction de l'expérience 18), il est important de rappeler que cette expression peut être affectée par : 1) une perte des récepteurs ciblés par l'halopéridol, 2) une altération de la libération tonique de dopamine, et/ou 3) la perte d'une neurotransmission excitatrice. Il n'existe à l'heure actuelle aucune information relative aux effets de la lésion du cortex entorhinal sur l'expression des récepteurs à la dopamine, notamment sur les récepteurs D_2, ciblés par l'halopéridol. Quant aux donnés relatives à la libération basale de dopamine, elles seraient plutôt en faveur d'une absence d'effet de la lésion (Coutureau et coll., 2002). Néanmoins, une lésion excitotoxique du cortex entorhinal gauche entraîne une diminution du niveau de dihydroxyphénylacétate (DOPAC ; métabolite de la dopamine) 14 jours après la lésion, mais cet effet disparaît 28 jours après la lésion (Kurachi et coll., 2000). Ces mêmes auteurs observent une différence, chez les animaux lésés, entre le niveau de dopamine mesuré 14 jours et celui mesuré 28 jours après la lésion, celle-ci résultant d'une légère diminution (J14 ; non significative) suivie d'une légère augmentation (J18 ; non significative) du niveau de dopamine par rapport aux animaux non lésés. Les auteurs suggèrent que la diminution du niveau de DOPAC observée à 14 jours résulterait de la perte de l'effet excitateur exercé par le cortex entorhinal (l'absence d'effet à 28 jours résultant d'un mécanisme compensatoire). Cet effet excitateur du cortex entorhinal a d'ailleurs déjà été proposé par Louilot et Le Moal (Louilot et Le Moal, 1994) suite à leur mise

en évidence d'une diminution du niveau de DOPAC après une inactivation du cortex entorhinal par la TTX. Cet effet n'a cependant pas pu être observé 7 jours après une lésion électrolytique du cortex entorhinal (Coutureau, 1999), ces auteurs mentionnant cependant que leur méthode de microdialyse présentait une faible sensibilité. Dès lors, la perte de la composante glutamatergique (en interaction au niveau postsynaptique avec la dopamine) semble l'explication la plus plausible des effets obtenus suite à la lésion du cortex entorhinal (tout au moins concernant l'expression du gène *c-fos*).

Bien que nos résultats semblent privilégier une altération du système dopaminergique méso-accumbens à un niveau postsynaptique dans le cadre de l'interaction entre la dopamine et le glutamate, il ne peut être ignoré que le cortex entorhinal semble exercer un contrôle excitateur sur la libération tonique de dopamine (Kurachi et coll., 2000 ; Louilot et Le Moal, 1994). De fait, la lésion du cortex entorhinal devrait produire une diminution de la libération tonique de dopamine. Cette diminution n'a pas pu être observée plusieurs jours après des lésions du cortex entorhinal (Coutureau et coll., 2002, mais Louilot et Choulli, 1997 avec une lésion à la 6-OHDA), suggérant l'existence de compensations homéostatiques. Ces dernières interviennent pour restaurer la stimulation constitutive des récepteurs dopaminergiques à son niveau basal (voir Grace, 1991 ; Grace, 1995 ; Grace, 2000) et peuvent conduire à une libération phasique de dopamine augmentée et/ou à une augmentation de l'efficacité des récepteurs postsynaptiques. Nos données semblent réfuter l'idée d'une augmentation de la libération phasique de dopamine (cf. paragraphe précédent, mais également Coutureau et coll., 2002), tout au moins au niveau du noyau accumbens (pour un effet au niveau de l'amygdale, voir Uehara et coll., 2004). Au niveau postsynaptique, les processus compensatoires activés en réponse à la diminution du niveau tonique de dopamine devraient être analogues à ceux produits par des lésions des afférences dopaminergiques, à savoir une augmentation de l'expression des récepteurs D_2 (Jongen-Relo et coll., 1994 ; les effets sur les récepteurs D_1 étant plus controversés). Bien qu'il n'existe aucune information relative aux effets de la lésion du cortex entorhinal sur l'expression des récepteurs D_2, nos résultats concernant l'altération de l'expression de l'ARNm *c-fos* (expérience 17) permettent d'écarter cette possibilité, ceux-ci s'accordant plutôt avec une diminution (perte des récepteurs ciblés par l'halopéridol) qu'avec une augmentation des récepteurs D_2. D'ailleurs, il a été montré qu'une lésion de l'hippocampe par injection intracérébroventriculaire d'acide kaïnique n'a pas d'effet sur l'expression de c-Fos induite par l'halopéridol (Roe et coll., 1998), alors qu'elle

augmente la densité des récepteurs D_2 dans le noyau accumbens (Bardgett et coll., 1995). D'autre part, il semblerait que l'augmentation des récepteurs D_2 ne suffise pas à elle seule à expliquer l'augmentation de la sensibilité comportementale observée suite à une lésion à la 6-OHDA (Mandel et coll., 1993), conduisant certains à s'intéresser à l'implication des récepteurs D_3 (Robinet et Bardo, 2001). Contrairement à celle des récepteurs D_2, l'expression des récepteurs D_3 est diminuée suite à des lésions à la 6-OHDA (Levesque et coll., 1995 ; Robinet et Bardo, 2001 ; Stanwood et coll., 2000). Comme mentionné précédemment pour les récepteurs D_2, il n'existe pas de données relatives aux effets de la lésion du cortex entorhinal sur l'expression des récepteurs D_3. Néanmoins, la forte susceptibilité (aux effets de la lésion) de l'expression de c-Fos induite par la clozapine (expérience 18) suggère que l'intégrité fonctionnelle de ces récepteurs pourrait être affectée suite à la lésion. Il est d'ailleurs intéressant de noter que, tout comme nos animaux lésés, des souris mutantes pour le récepteur D_3 présentent une augmentation de l'activité locomotrice induite par la nouveauté (Xu et coll., 1997) et une augmentation de l'activité nocturne, mais pas de l'activité diurne (Betancur et coll., 2001). Ceci nous a conduit à nous intéresser à l'intégrité fonctionnelle des récepteurs D_3 suite à la lésion du cortex entorhinal (voir chapitre suivant).

CHAPITRE 4 :
EFFET DE LA LESION DU CORTEX ENTORHINAL SUR L'INTEGRITE FONCTIONNELLE DU RECEPTEUR D_3 A LA DOPAMINE

INTRODUCTION

Les récepteurs à la dopamine sont au nombre de cinq, nommés de D_1 à D_5. Selon leur homologie de séquence, l'organisation de leurs gènes et leur similarité fonctionnelle, ces récepteurs peuvent être regroupés en deux classes distinctes : les récepteurs de type D_1 (D_1 et D_5) dont la stimulation active l'adénylate cyclase et les récepteurs de type D_2 (D_{2S}, D_{2L}, D_3 et D_4) dont la stimulation inhibe l'adénylate cyclase (pour revue, voir Jackson et Westlind-Danielsson, 1994 ; Missale et coll., 1998). Il est important de noter que l'activation du récepteur D_3 semble recruter deux voies de signalisation intracellulaire (Griffon et coll., 1997) et de fait peut interagir de manière opposée ou synergique avec les récepteurs couplés positivement à l'adénylate cyclase. Contrairement aux récepteurs D_1 et D_2, l'expression du récepteur D_3 dans le cerveau est des plus restreinte, avec les densités les plus fortes ayant été observées dans les îlots de Calleja, suivi du noyau accumbens et particulièrement dans la partie *shell* (pour revue, voir Shafer et Levant, 1998, voir également Bancroft et coll., 1998, Khan et coll., 1998 et Bouthenet et coll., 1991 pour la localisation du récepteur détectée par "*binding*", par immunohistochimie ou pour la localisation de le l'ARNm des récepteurs D_3, respectivement). Il existe une correspondance étroite entre les distributions détectées par ces trois techniques (pour une comparaison, voir Diaz et coll., 2000), confirmant une localisation postsynaptique (Diaz et coll., 1995). Au niveau du noyau accumbens, entre autres, le récepteur D_3 a été décrit comme co-exprimé avec les récepteurs D_1 ou les récepteurs D_2 (Le Moine et Bloch, 1996), mais la coexistence des récepteurs D_1 et D_3 est bien plus prononcée (Curran et Watson, Jr., 1995 ; Ridray et coll., 1998). Il convient de noter toutefois que le niveau d'expression par cellule du récepteur D_1 est plus important que celui du récepteur D_3, la plus forte affinité du récepteur D_3 à la dopamine (voir Richtand et coll., 2001b ; Richtand et coll., 2001a) permettant d'expliquer que son activation puisse contrer celle du récepteur D_1 en dépit de sa plus faible abondance. Les conséquences fonctionnelles de cette coexistence D_1/D_3 peuvent être variables, conduisant dans certains cas à des effets antagonistes et dans d'autres à des effets synergiques (Schwartz et coll., 1998), en accord avec la possibilité d'action opposée ou synergique avec les récepteurs couplés positivement à l'adénylate cyclase (Griffon et coll., 1997). Le fait qu'une cellule puisse recevoir des influences opposées du même neurotransmetteur peut paraître déconcertant. Mais si l'on considère la plus forte sensibilité du récepteur D_3 à la dopamine d'une part, et la plus forte densité des récepteurs D_1 d'autre part,

on peut imaginer qu'un tel dispositif puisse jouer un rôle de tampon, augmentant le seuil de réponse de la dopamine.

L'expression du récepteur D_3 est largement dépendante de l'intégrité de l'innervation dopaminergique, l'ablation des neurones dopaminergiques ascendants par la 6-OHDA diminuant l'expression du récepteur D_3 dans le noyau accumbens du côté lésé (Bordet et coll., 1997 ; Levesque et coll., 1995 ; Robinet et Bardo, 2001). Cette régulation, paradoxale comparée à celle du récepteur D_2 (Griffon et coll., 1995), résulte de la perte d'un facteur trophique, le BDNF (pour *Brain-Derived Neurotrophic Factor*), synthétisé, transporté par voie antérograde et libéré par les neurones dopaminergiques (Guillin et coll., 2001). Au niveau du striatum (noyaux caudé-putamen et accumbens), il n'y a pas de cellules exprimant l'ARNm du BDNF (Altar et coll., 1997 ; Conner et coll., 1997), mais au contraire des fibres et/ou terminaisons immunoréactives au BNDF (Altar et coll., 1997 ; Conner et coll., 1997). En effet, le BDNF striatal provient des afférences dopaminergiques, mais une grande partie est également d'origine corticale (Altar et coll., 1997). Le cortex entorhinal contient des cellules exprimant l'ARNm du BDNF, mais également sa protéine (Conner et coll., 1997 ; Tokuyama et coll., 1998) et ce aussi bien dans les couches superficielles (projections vers l'hippocampe) que dans les couches profondes (projections extra-hippocampiques). Il devient alors envisageable que suite à la lésion du cortex entorhinal, le noyau accumbens (où d'autres régions cibles du cortex entorhinal exprimant les récepteurs D_3) soit privé d'une partie de son innervation en BDNF et que de ce fait, l'expression des récepteurs D_3 soit diminuée. Il a par exemple été montré que la lésion de l'hippocampe (région riche en BDNF ; Conner et coll., 1997 ; Tokuyama et coll., 1998) produit une diminution du nombre de récepteurs D_3 au niveau du noyau accumbens (Flores et coll., 1996).

Compte tenu des effets particulièrement marqués de la lésion du cortex entorhinal sur l'expression de c-Fos induit par la clozapine (expérience 18) et aux données suggérant que le blocage des récepteurs D_3 pourrait jouer un rôle majeur dans l'induction de c-Fos par la clozapine (voir discusion expérience 18, dernier paragraphe), nous avons émis l'hypothèse selon laquelle l'intégrité fonctionnelle des récepteurs D_3 pourrait être altérée par la lésion, cette altération pouvant rendre compte des effets comportementaux observés chez les animaux lésés en ce qui concerne l'augmentation de l'activité locomotrice induite par la nouveauté (expérience 13), l'augmentation de l'activité nocturne (expérience 13) et l'augmentation de

l'activité locomotrice induite par l'amphétamine (expérience 14 et 16). Ainsi, une augmentation de l'activité locomotrice induite par la nouveauté a été décrite chez des souris mutantes n'exprimant pas le récepteur D_3 (mutantes D_3-/- ; Xu et coll., 1997) ou suite à une diminution de l'expression des récepteurs D_3 par administration d'un oligonucléotide anti-sens (Ekman et coll., 1998). Une augmentation de l'activité nocturne a été également observée chez des souris mutantes D_3-/- (Betancur et coll., 2001 ; Boulay et coll., 1999). Enfin, une augmentation de l'activité locomotrice induite par l'amphétamine a été décrite à la suite du blocage des récepteurs D_3 par des antagonistes (Waters et coll., 1993, mais Maj et coll., 1999 ; Richtand et coll., 2000 ; Reavill et coll., 2000), l'administration d'agoniste ayant l'effet opposé (De Boer et coll., 1997 ; Thorn et coll., 1997). Concernant les autres effets décrits suite à la lésion du cortex entorhinal dans ce mémoire, l'implication des récepteurs D_3 semble moins évidente. Cependant, il a été décrit que des souris mutantes D_3-/- avaient tendance à passer plus de temps dans les branches ouvertes d'un labyrinthe en croix surélevé (Xu et coll., 1997), ceci s'accordant avec la diminution de l'anxiété que nous observons chez les animaux lésés dans la même situation expérimentale (expérience 10). De même, la diminution globale de l'expression de c-Fos observée dans la partie dorsale du noyau accumbens *shell* chez les animaux lésés (expérience 18) a été décrite au niveau des cortex cingulaire et préfrontal (le niveau basal au niveau accumbens étant en dessous des limites de détection) suite à une diminution de l'expression des récepteurs D_3 par administration d'un oligonucléotide anti-sens (Tremblay et coll., 1998a ; Tremblay et coll., 1999). Par contre, alors que la lésion du cortex entorhinal affecte l'expression de c-Fos induite par la clozapine (expérience 18), cette expression n'est pas modifiée chez des souris mutantes D_3-/- (Carta et Gerfen, 1999). De même, alors que nous n'observons aucun effet de la lésion du cortex entorhinal sur la préférence de place induite par amphétamine (expérience 16), celle-ci a été décrite comme augmentée chez des souris mutantes D_3-/- (Xu et coll., 1997). Enfin, il n'existe pas de donnée relatives à l'implication des récepteurs D_3 dans l'inhibition latente (expérience 5) ou concernant la réponse émotionnelle conditionnée (expérience 8). Mais, une facilitation de conditionnement, en évitement passif, a pu être observée suite au blocage des récepteurs D_3 (Sigala et coll., 1997).

Le but des expériences de ce chapitre est de tester si la lésion du cortex entorhinal modifie le fonctionnement et/ou l'expression des récepteurs D_3. Pour cela, nous avons évalué les effets de la lésion dans diverses situations impliquant le blocage ou la stimulation de ces récepteurs

(pour revue, voir Shafer et Levant, 1998). Sur la base des résultats du chapitre précédent, nous nous sommes intéressés dans un premier temps à l'expression du gène *c-fos* (expérience 19). Le récepteur D_3 étant couplé négativement à l'adénylate cyclase, en agissant sur ces récepteurs, la dopamine va diminuer le taux d'AMPc intracellulaire. De fait, pour entraîner la transcription du gène *c-fos*, il faut bloquer cet effet inhibiteur. L'expression de *c-fos* est en effet augmentée suite au blocage des récepteurs D_3 par des antagonistes (Kovacs et coll., 2001 ; Kurokawa et coll., 1997 ; Merchant et coll., 1996 ; Ridray et coll., 1998 ; Shafer et Levant, 1997), l'administration d'agonistes s'étant avérée sans effet (Shafer et Levant, 1997, mais Morris et coll., 2000 ; Scheideler et coll., 1997). Nous avons donc opté pour l'utilisation d'un antagoniste sélectif des récepteurs D_3, à savoir le nafadotride (Hackling et Stark, 2002 ; Schwartz et coll., 1995), celui-ci ayant été décrit comme présentant une affinité pour les récepteurs D_3 10 fois supérieure à celle qu'il présente pour les récepteurs D_2 (Audinot et coll., 1998 ; Sautel et coll., 1995b). Afin de confirmer au niveau comportemental, les effets obtenus dans cette expérience, nous avons donc entrepris de tester les effets de la lésion sur l'activité locomotrice induite par le blocage des récepteurs D_3 par le nafadotride (expérience 20).

Il existe de nombreuses controverses quant à l'implication des récepteurs D_3 dans l'activité locomotrice (Boulay et coll., 1999 ; Jung et coll., 1999 ; Xu et coll., 1999), mais il est relativement bien accepté que la locomotion dépend de l'action de la dopamine sur les récepteurs D_1, D_2 et D_3 du striatum ventral (pour revue, voir Jackson et Westlind-Danielsson, 1994). Ainsi, l'activation des autorécepteurs D_2, qui produit une diminution de la libération de dopamine, entraîne une diminution de la locomotion, alors que l'activation des récepteurs D_2 postsynaptiques augmente légèrement la locomotion, une stimulation concomitante des récepteurs D_1 étant essentielle pour produire un effet maximal *via* une interaction synergique. Quant au récepteur D_3, il aurait un rôle opposé à celui des récepteurs D_2 postsynaptiques, exerçant un contrôle inhibiteur sur la locomotion (Richtand et coll., 2001b ; Shafer et Levant, 1998). Ainsi, la locomotion dépendrait d'un équilibre entre l'activation induite par la stimulation des récepteurs D_1/D_2 et l'inhibition exercée par la stimulation des récepteurs D_3. Et il a d'ailleurs été montré que la perte de cette inhibition chez des souris mutantes D_3-/- entraînait une plus forte sensibilité aux effets moteurs de la cocaïne (agoniste indirect de la dopamine) ou de la stimulation conjointe des récepteurs D_1 et D_2 (Carta et coll., 2000 ; Xu et coll., 1997). De plus, la stimulation des récepteurs D_3 par des agonistes (Svensson et coll., 1994) ou leur blocage par des antagonistes (Waters et coll., 1993) diminue ou augmente,

respectivement l'activité locomotrice, et ce à des concentrations n'affectant pas la transmission dopaminergique. Il est intéressant de noter que ces effets sont aussi observés lorsque ces mêmes composés sont directement infusés dans le noyau accumbens (Gilbert et Cooper, 1995 ; Kling-Petersen et coll., 1995, mais Meyer, 1996).

Bien que le nafadotride ait été décrit comme augmentant l'activité locomotrice (Dall'Olio et coll., 2002 ; Sautel et coll., 1995b), et ce vraisemblablement *via* une action au niveau du noyau accumbens (Barik et de Beaurepaire, 1996), nous n'avons pas pu reproduire un tel effet. Ne pouvant donc pas évaluer les effets de la lésion du cortex entorhinal dans ces conditions, nous avons décidé de tester les effets de la lésion sur l'hypoactivité induite par la stimulation des récepteurs D_3 (expérience 21). Pour cela, nous avons utilisé dans l'expérience 21 un agoniste sélectif des récepteurs D_3, le PD128907 (Crider et Scheideler, 2001 ; Pugsley et coll., 1995), celui-ci ayant été décrit comme présentant une affinité pour les récepteurs D_3 53 fois supérieure à celle qu'il présente pour les récepteurs D_2 (Sautel et coll., 1995a ; Griffon et coll., 1996b).

Avertissement :

Le rôle des récepteurs D_3 à la dopamine est à ce jour largement controversé, la recherche dans ce domaine étant entravée par l'absence de composés pharmacologiques pouvant discriminer complétement les récepteurs D_3 des récepteurs D_2 à la dopamine. Les outils pharmacologiques utilisés dans ce chapitre, notamment le nafadotride, ne sont pas assez sélectifs pour être utilisés *in vivo* pour l'exploration des fonctions de ce récepteur. Néanmoins, nous ne disposions pas d'outils plus appropriés au moment où ce travail de thèse a été réalisé.

EXPERIENCE 19 : EFFET DE LA LESION DU CORTEX ENTORHINAL SUR L'EXPRESSION DU GENE *C-FOS* INDUITE PAR LE NAFADOTRIDE

Introduction

Le but de cette expérience est d'évaluer les effets de la lésion du cortex entorhinal sur l'expression du gène *c-fos* induite par le nafadotride, un antagoniste préférentiel des récepteurs D_3 (cf. introduction du chapitre). Le nafadotride a été décrit comme étant relativement sélectif pour les récepteurs D_3 dans une gamme de concentration allant de 0,2 à 1 mg/kg (Griffon et coll., 1995 ; Levant et Vansell, 1997 ; Sautel et coll., 1995b). De fait, il a été administré à la plus forte concentration pour laquelle il présente une sélectivité pour les récepteurs D_3, à savoir 1 mg/kg. Par ailleurs, compte tenu des résultats du chapitre précédent (cf. discussion expérience 18), nous avons utilisé une technique d'hybridation *in situ*, et non d'immunohistochimie, pour révéler l'expression du gène *c-fos*. De plus, tout comme dans l'expérience 17, nous avons étudié cette expression de l'ARNm *c-fos* dans plusieurs structures cérébrales (le striatum, l'amygdale, le septum, le cortex cingulaire et l'hippocampe) présentant des connexions anatomiques avec le cortex entorhinal (Totterdell et Meredith, 1997 ; Pitkanen et coll., 2000 ; Leranth et coll., 1999 ; Insausti et coll., 1997 ; Witter et coll., 2000b, respectivement) et recevant des afférences du système dopaminergique mésencéphalique (Swanson, 1982).

Matériel et méthodes

Animaux

Vingt et un rats sont utilisés dans cette expérience. L'opération chirurgicale a lieu selon la méthode décrite dans l'expérience 3, treize rats subissant une lésion du cortex entorhinal (ENTO) et 8 rats servant de témoins pseudo-opérés (PSEUDO). Le nafadotride (généreusement offert par le Dr Sokoloff) est dissous dans du NaCl à 0,9% de façon à obtenir une concentration de 1mg/kg. Le matériel et la technique utilisés pour révéler l'expression de l'ARNm *c-fos* sont identiques à ceux de l'expérience 17.

Analyse des données

Pour chaque région cérébrale, la variable DOm (signal moyen de densité optique, cf. expérience 17) fait l'objet d'une analyse de variance (ANOVA) à deux facteurs (facteur Traitement à 2 niveaux [solvant ; nafadotride] et facteur Lésion à 2 niveaux [PSEUDO ; ENTO]). Les différences entre les groupes sont établies par des comparaisons *post-hoc* avec le test de Newman-Keuls.

Résultats

Vérifications histologiques

Cinq rats ont été écartés de l'analyse statistique des résultats sur la base des critères suivants : atteinte importante du gyrus denté et/ou du champ CA1 de l'hippocampe (n=2), atteinte unilatérale (n=2), atteinte insuffisante du cortex entorhinal (n=1). A l'issue de la vérification histologique, les effectifs de chacun des groupes sont les suivants : PSEUDO-solvant (n=4), PSEUDO-nafadotride (n=4), ENTO-solvant (n=4) et ENTO-nafadotride (n=4).

Comme l'illustre la figure 19.1 la lésion s'étend des plans -6,3 mm à -8,72 mm par rapport au Bregma. La lésion affecte à la fois la partie médiane et la partie latérale du cortex entorhinal. Les couches superficielles sont systématiquement touchées, les couches profondes étant également atteintes dans la majorité des cas. Il faut également noter une atteinte subiculaire ventrale dans certains cas. Aucune atteinte n'est observée chez les animaux PSEUDO.

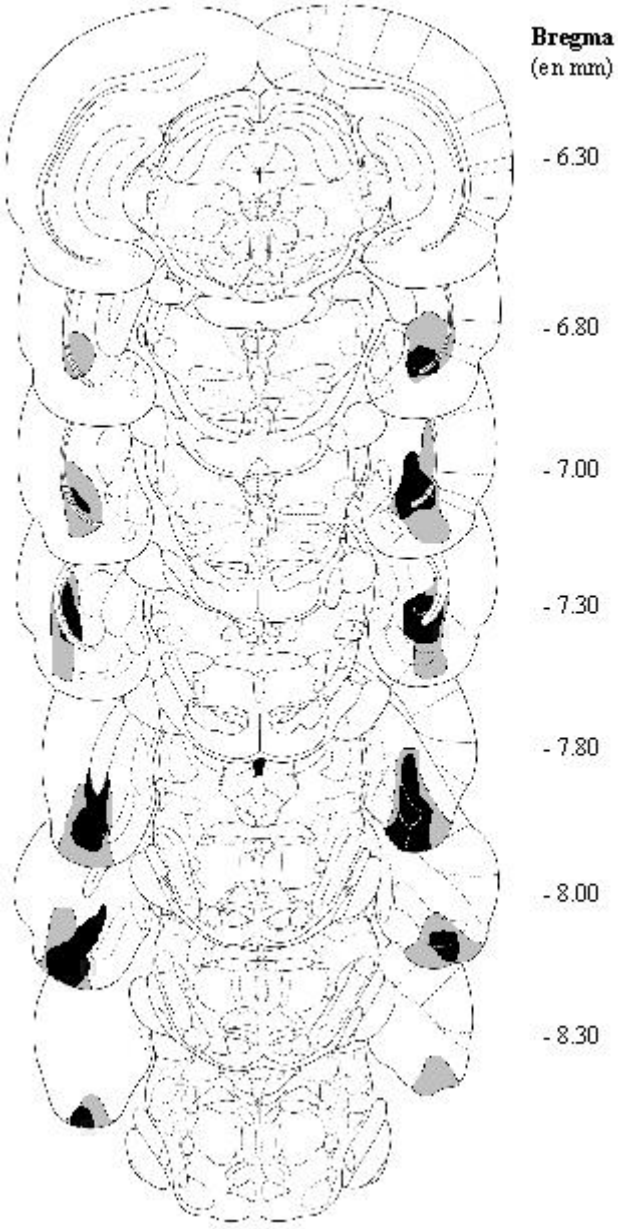


Figure 19.1 : Représentation schématique de la plus petite (en noir) et de la plus grande (en gris) étendue des lésions du cortex entorhinal. Les coordonnées des sections frontales correspondent à la distance par rapport au Bregma (d'après Paxinos et Watson, 1998).

Expression de l'ARNm *c-fos*

Seuls les résultats obtenus dans les régions cérébrales dans lesquelles l'ANOVA a révélé un effet significatif de l'un ou de l'autre des facteurs et/ou de leur interaction sont illustrées à la figure 19.2. Les résultats obtenus dans les autres régions cérébrales étudiées sont indiqués dans le tableau 19.1. L'ensemble de ces données est résumé dans le tableau 19.2.

Dans toutes les régions cérébrales étudiées, l'injection de solvant produit un patron d'activation similaire entre les animaux PSEUDO et les animaux ENTO, suggérant que la lésion *per se* ne modifie pas l'expression de l'ARNm *c-fos*.

Au niveau du **cortex cingulaire caudal** (figure 19.2), le nafadotride augmente le niveau d'expression de l'ARNm *c-fos* chez les animaux PSEUDO, mais pas chez les animaux ENTO. Cette description des données est confirmée par l'ANOVA qui révèle un effet du facteur Traitement ($F(1,13)=8,20$, $p<0,05$), mais pas du facteur Lésion ($F(1,13)=2,60$, ns), ni de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(1,13)=3,24$, ns). L'analyse *post-hoc* de comparaisons multiples entre groupes montre que les animaux PSEUDO sous nafadotride diffèrent des animaux PSEUDO sous solvant ($p<0,05$), mais aussi des animaux ENTO sous nafadotride ($p<0,05$).

Au niveau du **cortex cingulaire rostral** (tableau 19.1), le nafadotride n'affecte pas l'expression de l'ARNm *c-fos* que ce soit chez les animaux PSEUDO ou les animaux ENTO. Cette description des données est confirmée par l'ANOVA qui ne révèle aucun effet des facteurs Traitement ($F(1,13)=0,21$, ns), Lésion ($F(1,13)=2,22$, ns), ni de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(1,13)=0,10$, ns).

Au niveau du **noyau caudé-putamen dorsomédian** (figure 19.2), le nafadotride augmente le niveau d'expression de l'ARNm *c-fos* chez les animaux PSEUDO, mais pas chez les animaux ENTO. Cette description des données est confirmée par l'ANOVA qui révèle un effet des facteurs Traitement ($F(1,13)=8,79$, $p<0,05$), Lésion ($F(1,13)=8,09$, $p<0,05$), ainsi que de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(1,13)=10,47$, $p<0,01$). L'analyse *post-hoc* sur l'interaction montre que les animaux PSEUDO sous nafadotride diffèrent des animaux PSEUDO sous solvant ($p<0,01$), mais aussi des animaux ENTO sous nafadotride ($p<0,01$).

Au niveau du **noyau caudé-putamen dorsolatéral** (figure 19.2), le nafadotride augmente le niveau d'expression de l'ARNm *c-fos* chez les animaux PSEUDO, mais pas chez les

animaux ENTO. Cette description des données est confirmée par l'ANOVA qui révèle un effet du facteur Traitement ($F(1,13)=6,74$, $p<0,05$), mais pas du facteur Lésion ($F(1,13)=2,35$, ns), l'interaction entre ces deux facteurs étant significative ($F(1,13)=5,39$, $p<0,05$). L'analyse *post-hoc* sur l'interaction montre que les animaux PSEUDO sous nafadotride diffèrent des animaux PSEUDO sous solvant ($p<0,05$), mais aussi des animaux ENTO sous nafadotride ($p<0,05$).

Au niveau du **noyau accumbens *core*** (figure 19.2), le nafadotride augmente le niveau d'expression de l'ARNm *c-fos* chez les animaux PSEUDO, mais pas chez les animaux ENTO. Cette description des données est confirmée par l'ANOVA qui révèle un effet du facteur Traitement ($F(1,13)=8,42$, $p<0,05$), mais pas du facteur Lésion ($F(1,13)=2,60$, ns), ni de l'interaction entre ces deux facteurs bien que celle-ci soit proche d'être significative ($F(1,13)=3,78$, $p=0,07$). L'analyse *post-hoc* de comparaisons multiples entre groupes montre que les animaux PSEUDO sous nafadotride diffèrent des animaux PSEUDO sous solvant ($p<0,05$), mais aussi des animaux ENTO sous nafadotride ($p<0,05$).

Au niveau du **noyau accumbens *shell*** (figure 19.2), le nafadotride augmente le niveau d'expression de l'ARNm *c-fos* chez les animaux PSEUDO, mais pas chez les animaux ENTO. Cette description des données n'est cependant pas confirmée par l'ANOVA qui ne révèle aucun effet des facteurs Traitement ($F(1,13)=3,11$, ns), Lésion ($F(1,13)=0,97$, ns), ni de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(1,13)=2,96$, ns).

Au niveau du **septum latéral** (figure 19.2), le nafadotride augmente le niveau d'expression de l'ARNm *c-fos* chez les animaux PSEUDO, mais pas chez les animaux ENTO. Cette description des données est confirmée par l'ANOVA qui révèle un effet des facteurs Traitement ($F(1,13)=7,14$, $p<0,05$), Lésion ($F(1,13)=7,36$, $p<0,05$), mais pas de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(1,13)=2,72$, ns). L'analyse *post-hoc* de comparaisons multiples entre groupes montre que les animaux PSEUDO sous nafadotride diffèrent des animaux PSEUDO sous solvant ($p<0,01$), mais aussi des animaux ENTO sous nafadotride ($p<0,05$).

Au niveau de l'**amygdale centrale** (tableau 19.1), le nafadotride n'affecte pas l'expression de l'ARNm *c-fos* que ce soit chez les animaux PSEUDO ou les animaux ENTO. Cette description des données est confirmée par l'ANOVA qui ne révèle aucun effet des facteurs Traitement ($F(1,13)=0,23$, ns), Lésion ($F(1,13)=1,45$, ns), ni de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(1,13)=0,03$, ns).

Au niveau de l'**amygdale latérale** (tableau 19.1), le nafadotride n'affecte pas l'expression de l'ARNm *c-fos* que ce soit chez les animaux PSEUDO ou les animaux ENTO. Cette

description des données est confirmée par l'ANOVA qui ne révèle aucun effet des facteurs Traitement (F(1,13)=0,00, ns), Lésion (F(1,13)=1,11, ns), ni de l'interaction entre ces deux facteurs (F(1,13)=0,01, ns).

Au niveau des trois régions hippocampiques étudiées, les champs **CA1**, **CA3** et le **gyrus denté** (tableau 19.1), le nafadotride n'affecte pas l'expression de l'ARNm *c-fos* que ce soit chez les animaux PSEUDO ou les animaux ENTO. Cette description des données est confirmée par l'ANOVA qui ne révèle aucun effet des facteurs Traitement (F(1,13)=0,40, ns ; F(1,13)=0,34, ns ; F(1,13)=0,01, ns, respectivement), Lésion (F(1,13)=0,01, ns ; F(1,13)=0,03, ns ; F(1,13)=0,11, ns, respectivement), ni de l'interaction entre ces deux facteurs (F(1,13)=0,14, ns ; F(1,13)=0,97, ns ; F(1,13)=0,30, ns, respectivement).

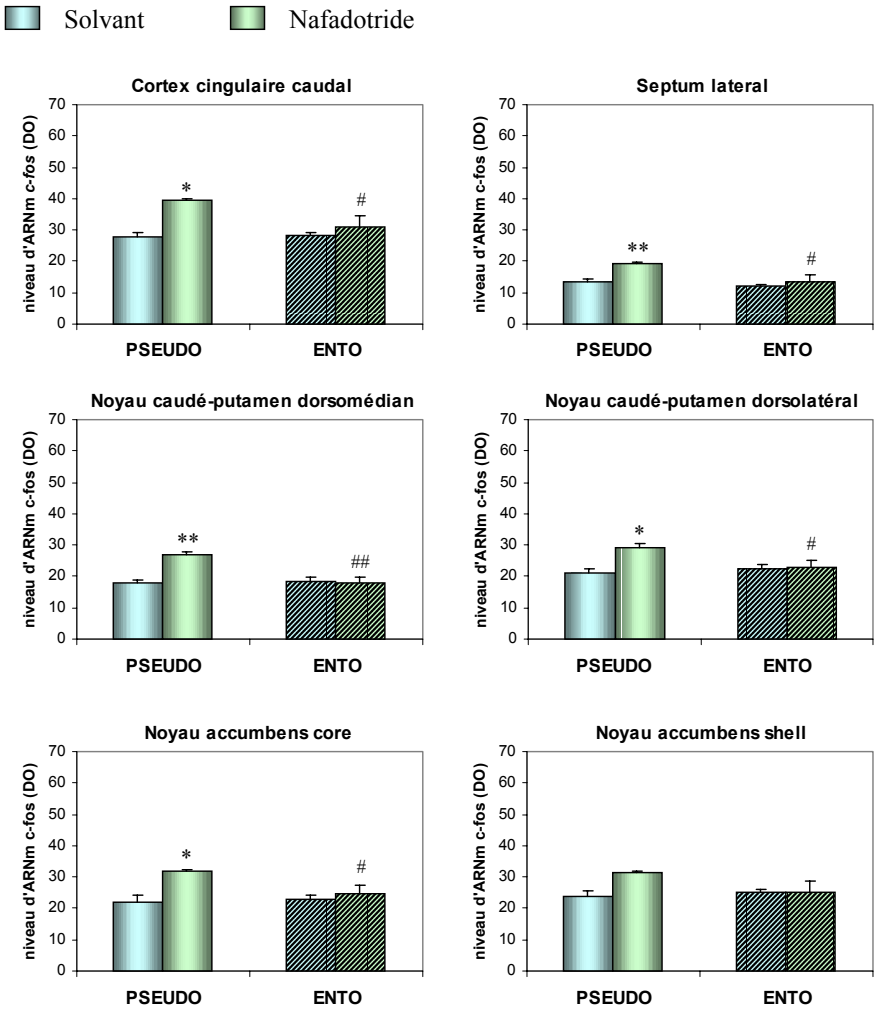


Figure 19.2 : Effet de la lésion du cortex entorhinal sur l'expression du gène *c-fos* induite par le nafadotride. Moyenne (± erreur type) de la densité optique DOm. * : p<0,05 et ** : p<0,01 par rapport au groupe sous solvant de la même condition chirurgicale. # : p<0,05 et ## : p<0,01 par rapport au groupe PSEUDO ayant reçu le même traitement.

	solvant		nafadotride	
	PSEUDO	ENTO	PSEUDO	ENTO
r Cg Cx	33,1 ± 2,2	30,0 ± 3,0	35,1 ± 2,7	30,4 ± 2,5
CE	26,4 ± 0,9	29,3 ± 3,1	24,6 ± 2,3	28,4 ± 2,1
LA	29.4 ± 0.4	33.0 ± 3.5	29,8 ± 2,0	32,7 ± 2,5
CA1	35.6 ± 0.8	36.6 ± 3.2	39,2 ± 4,1	37,5 ± 3,8
CA3	31.7 ± 0.9	34.8 ± 2.7	35,9 ± 3,0	33,7 ± 2,6
DG	38.9 ± 0.8	39.7 ± 2.6	41,1 ± 5,3	38,2 ± 3,0

Tableau 19.1 : Effet de la lésion du cortex entorhinal sur l'expression du gène *c-fos* induite par le nafadotride. Moyenne (± erreur type) de la densité optique DOm. Abréviations : rCgCx, cortex cingulaire rostral ; LA, amygdale latérale ; CA1, champ CA1 de l'hippocampe ; CA3, champ CA3 de l'hippocampe ; DG, gyrus denté.

	nafadotride	
	PSEUDO	ENTO
rCgCx	-	-
cCgCx	+	-
CPu dm	+	-
CPu dl	+	-
core	+	-
shell	-	-
SL	+	-
CA1	-	-
CA3	-	-
DG	-	-
CA	-	-
LA	-	-

Tableau 17.2 : Récapitulatif des effets de la lésion du cortex entorhinal sur l'expression du gène *c-fos* induite par le nafadotride. - : absence d'induction ; + : faible induction. Abréviations : rCgCx, cortex cingulaire rostral ; cCgCx, cortex cingulaire caudal ; CPu dm, noyau caudé-putamen dorsomédian ; CPu dl, noyau caudé-putamen dorsolatéral ; core, noyau accumbens *core* ; shell, noyau accumbens *shell* ; SL, septum latéral ; CA1, champ CA1 de l'hippocampe ; CA3, champ CA3 de l'hippocampe ; DG, gyrus denté ; CA, amygdale centrale ; LA, amygdale latérale.

Discussion

Les résultats de cette expérience montrent que le nafadotride augmente l'expression de l'ARNm *c-fos* dans plusieurs structures cérébrales, à savoir le cortex cingulaire caudal, le noyau caudé-putamen (dorsomédian et dorsolatéral), la partie *core* du noyau accumbens et le septum latéral. Dans les autres structures étudiées, le nafadotride n'affecte pas l'expression de l'ARNm *c-fos*, à l'exception de la partie *shell* du noyau accumbens, mais l'augmentation

observée n'est pas significative. La lésion du cortex entorhinal supprime l'expression de l'ARNm *c-fos* induite par le nafadotride dans toutes les structures étudiées.

Il n'existe que très peu d'étude concernant les effets du nafadotride sur l'expression du gène *c-fos*. Ainsi, il a été montré que le nafadotride augmentait l'expression de l'ARNm *c-fos* dans les îlots majeurs de Calleja (Ridray et coll., 1998) et de la protéine c-Fos dans les tubercules olfactifs et le noyau accumbens (Shafer et Levant, 1997). Il est de fait difficile de confronter nos résultats avec ces études, puisque nous avons étudié les effets du nafadotride dans un plus grand nombre de structure. Néanmoins, à l'exception de l'absence d'effet au niveau de la partie *shell* du noyau accumbens et de l'amygdale centrale, nos résultats s'accordent avec ceux obtenus avec d'autres antagonistes des récepteurs D_3. Ainsi, le U-99194A augmente l'expression de *c-fos* dans le cortex préfrontal médian (Merchant et coll., 1996), le YM-43611 augmente l'expression de *c-fos* dans la partie *shell* du noyau accumbens et les îlots majeurs de Calleja (Kurokawa et coll., 1997), et le RGH-1756 augmente l'expression de *c-fos* dans les cortex préfrontal et cingulaire, le septum latéral, les parties *core* et *shell* du noyau accumbens, les îlots majeurs de Calleja, le noyau caudé-putamen et l'amygdale centrale (Kovacs et coll., 2001). Enfin, il est important de noter que le GR103691, un autre antagoniste préférentiel des récepteurs D_3, a été décrit comme ne présentant pas d'effet sur l'expression de *c-fos* (Hurley et coll., 1996), mais ce résultat doit être considéré avec précaution puisqu'il a été montré que ce composé était peu actif *in vivo* (Audinot et coll., 1998). Dans notre étude, l'absence d'effet significatif au niveau de la partie *shell* du noyau accumbens est particulièrement troublante sachant que les récepteurs D_3 sont exprimés de manière prédominante dans cette région (Bouthenet et coll., 1991 ; Diaz et coll., 1995). Il en est de même, mais dans une moindre mesure, pour l'amygdale centrale (Murray et coll., 1994). Mis à part ces deux régions, le pattern d'activation observé avec le nafadotride (résultat présent ; Ridray et coll., 1998 ; Shafer et Levant, 1997) est en accord avec les données concernant la localisation des récepteurs D_3 (Bancroft et coll., 1998 ; Bouthenet et coll., 1991 ; Khan et coll., 1998). Concernant le noyau caudé-putamen, il est important de noter que les récepteurs D_3 sont situés le long du ventricule latéral et sous le corps calleux (Le Moine et Bloch, 1996) et donc dans les zones où l'expression de *c-fos* a été quantifiée (cf. figure 1 de l'expérience 17). Par ailleurs, le pattern d'activation obtenu en mesurant l'expression de l'ARNm *c-fos* (résultat présent) s'accorde avec celui obtenu par mesure de l'autoradiographie du 2-déoxyglucose (Levant et coll., 1998).

La lésion du cortex entorhinal n'altère pas l'expression basale de *c-fos* (animaux sous solvant) tout comme dans l'expérience 17. Par contre, elle supprime l'expression du gène *c-fos* induite par le nafadotride. Précédemment nous avions proposé que l'altération de l'expression du gène *c-fos* induite par l'halopéridol pouvait résulter : 1) d'une perte des récepteurs ciblés par l'halopéridol, 2) d'une altération de la libération tonique de dopamine, et/ou 3) de la perte d'une neurotransmission excitatrice. Le mécanisme par le lequel le nafadotride augmente l'expression de *c-fos* n'est pas connu, mais pourrait dépendre du blocage des récepteurs D_3, bien qu'une action sur les récepteurs D_2 ne puisse être totalement écartée. Le nafadotride étant un antagoniste (Griffon et coll., 1996a), son effet stimulateur, tout comme celui exercé par l'halopéridol, peut être attribué à la suppression du contrôle inhibiteur exercé par la dopamine. Tout comme les récepteurs D_2, les récepteurs D_3 sont couplés négativement à l'adénylate cyclase (Missale et coll., 1998), et l'augmentation du taux d'AMPc produit par le blocage de ces récepteurs, va entraîner la transcription du gène *c-fos* (voir introduction du chapitre 3). Dans le cas de l'halopéridol, cette levée de l'inhibition tonique exercée par la dopamine (par le blocage des récepteurs D_2) permet l'action d'autres neurotransmetteurs tels que le glutamate (voir introduction du chapitre 3). Bien que non démontré à ce jour, il serait possible d'envisager un fonctionnement similaire dans le cas du blocage des récepteurs D_3 par le nafadotride. L'hypothèse d'une altération de la libération tonique de dopamine consécutivement à la lésion du cortex entorhinal ayant été écartée sur la base des résultats décrits au chapitre 3 (cf. discussion de ce chapitre), les effets de la lésion du cortex entorhinal sur le patron d'activation *c-fos* induit par le nafadotride pourraient dépendre soit de la perte des récepteurs D_3, soit de la perte de la neurotransmission glutamatergique, soit encore des deux à la fois.

En résumé, les résultats de cette expérience montrent que la lésion du cortex entorhinal supprime l'expression du gène c-fos induite par le blocage des récepteurs D_3. Ceci suggère que la lésion affecte l'expression ou l'intégrité fonctionnelle de ces récepteurs, ou encore qu'elle prive de leur afférences glutamatergiques les neurones exprimant ces récepteurs. Les expériences suivantes ont pour but de tester l'intégrité fonctionnelle (au niveau comportemental) de ces récepteurs suite à la lésion du cortex entorhinal.

EXPERIENCE 20 : EFFET DE LA LESION DU CORTEX ENTORHINAL SUR L'ACTIVITE LOCOMOTRICE INDUITE PAR LE NAFADOTRIDE

Introduction

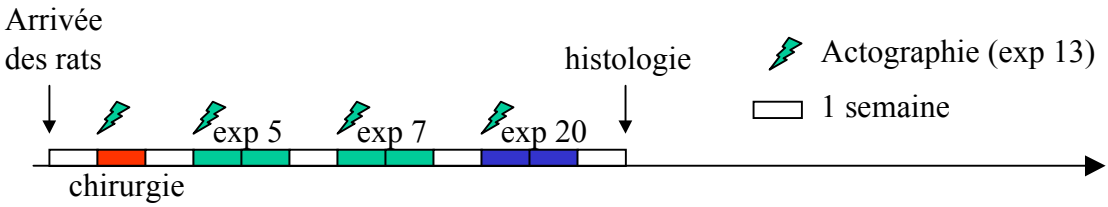
Dans l'expérience précédente l'expression de *c-fos* induite par la nafadotride étant supprimée par la lésion du cortex entorhinal, les effets comportementaux induits par ce composé devraient également être affectés. Parmi les effets comportementaux actuellement décrits consécutivement à une action pharmacologique au niveau des récepteurs D_3, les effets locomoteurs étant les plus documentés (cf. introduction de ce chapitre), le but de cette expérience est d'évaluer les effets de la lésion du cortex entorhinal sur l'activité locomotrice induite par le nafadotride. Ce dernier induit des effets sur la locomotion qualitativement différents en fonction de la dose utilisée. Ainsi, à doses faibles (0,2 - 3 mg/kg), il augmente l'activité locomotrice, cet effet n'étant plus présent à doses plus élevées (5 mg/kg) avec même une diminution de l'activité locomotrice (Sautel et coll., 1995b). Ce pattern comportemental biphasique du nafadotride serait lié à sa sélectivité partielle pour les récepteurs D_3, les effets hypolocomoteurs produits à fortes concentrations résultant du blocage des récepteurs D_2 (voir introduction de ce chapitre). De fait, si la lésion du cortex entorhinal affecte les effets du nafadotride induits par le blocage des récepteurs D_3 (cf. expérience précédente), elle devrait supprimer l'hyperactivité locomotrice induite à faible dose sans affecter l'hypoactivité locomotrice induite à forte dose. De fait, nous avons testé les effets de la lésion du cortex entorhinal sur l'activité locomotrice des animaux consécutivement à l'administration de différentes concentrations de nafadotride : faibles (0,1 et 1 mg/kg) censées produire une hyperactivité, et élevée (10 mg/kg) censée produire une hypoactivité.

Matériel et méthodes

Animaux

Soixante six rats sont utilisés dans cette expérience, ceux-ci étant ceux de l'expérience 5, et ont également été utilisés pour l'expérience 7 (voir ci-dessous, l'expérience en cours étant figurée en bleu). A l'issue de l'expérience 7, les rats ont été déplacés dans une animalerie attenante à une autre salle d'expérience. Ils ont alors accès à la nourriture et à la boisson *ad*

libitum pendant 10 jours avant le début de cette expérience, leur poids moyen étant alors de 415 grammes. Les effectifs des différents groupes, à l'issue de la vérification histologique, sont les suivants : PSEUDO-NAFA 0 (n=8), PSEUDO-NAFA 0,1 (n=7), PSEUDO-NAFA 1 (n=7), PSEUDO-NAFA 10 (n=8), ENTO-NAFA 0 (n=7), ENTO-NAFA 0,1 (n=5), ENTO-NAFA 1 (n=5) et ENTO-NAFA 10 (n=6).



Protocole

Le matériel est identique à celui de l'expérience 15. L'animal est placé dans un compartiment et son activité locomotrice est comptabilisée pendant 2 heures (période d'habituation). A l'issue de cette période, on procède à l'injection par voie intrapéritonéale, à raison de 1 ml/kg, du composé pharmacologique, puis l'animal est replacé immédiatement dans son compartiment. Un nouvel enregistrement débute alors pour une durée de 1 heure.

Le nafadotride est dissous dans du NaCl à 0,9% de façon à obtenir les concentrations suivantes : 0 ; 0,1 ; 1 et 10 mg/kg.

Analyse des données

Pour la phase d'habituation, l'activité locomotrice fait l'objet d'une analyse de variance (ANOVA) à deux facteurs (facteur Lésion à deux niveaux [PSEUDO ; ENTO]) et facteur Bloc à 24 niveaux).

Pour la phase de test, l'activité totale (1 heure) fait l'objet d'une ANOVA à deux facteurs (facteur Lésion à deux niveaux [PSEUDO ; ENTO] et facteur Traitement à 4 niveaux [NAFA 0 ; NAFA 0,1 ; NAFA 1 ; NAFA 10]).

Les différences entre les groupes sont établies par des comparaisons *post-hoc* avec le test de Newman-Keuls.

Résultats

La figure 20.1 représente l'évolution temporelle de l'activité locomotrice pendant l'habituation pour les deux groupes PSEUDO et ENTO. Pour les deux groupes, l'activité locomotrice décroît rapidement pendant la 1ère heure pour atteindre des niveaux très faibles tout au long de la 2ème heure. Cette description des résultats est confirmée par l'ANOVA qui révèle une effet du facteur Bloc ($F(23,1173)=69,89$, $p<0,0001$), mais pas du facteur Lésion ($F(1,51)=0,28$, ns), ni de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(23,1173)=0,76$, ns).

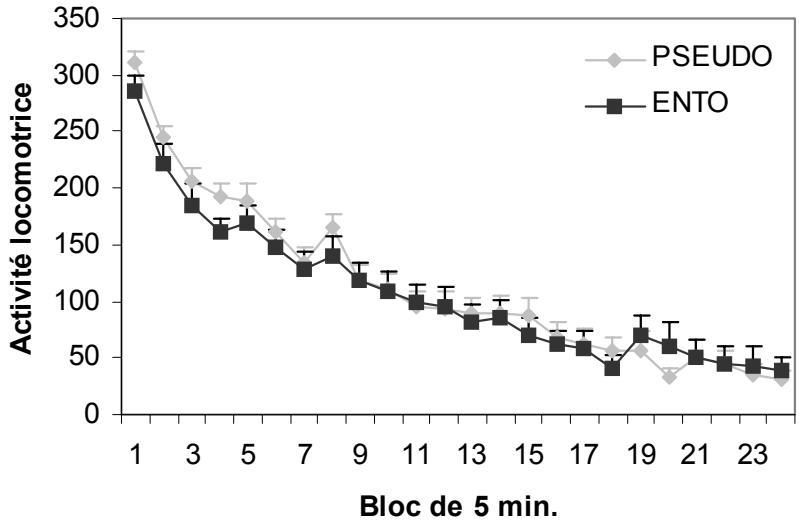


Figure 20.1 : Effet de la lésion du cortex entorhinal sur l'habituation à un environnement nouveau. Moyenne (± erreur type) du nombre de mouvements.

La figure 20.2 représente l'activité locomotrice totale (1 heure) pour l'ensemble des groupes. Chez les animaux PSEUDO, seul le groupe NAFA 10 semble différer (activité locomotrice inférieur) du groupe NAFA 0. Chez les animaux ENTO, le nafadotride semble diminuer l'activité locomotrice de façon dose-dépendante. L'ANOVA révèle un effet du facteur Traitement ($F(3,45)=4,36$, $p<0,01$), mais pas du facteur Lésion ($F(1,45)=0,98$, ns), ni de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(3,45)=1,18$, ns). L'analyse *post-hoc* sur le facteur Traitement indique que le groupe NAFA 10 diffère des groupes NAFA 0 et NAFA 1 ($p<0,05$ dans les deux cas) et tend à différer du groupe NAFA 0,1 ($p=0,06$). L'analyse *post-hoc* de comparaisons multiples entre groupes ne révèle aucune différence entre les groupes.

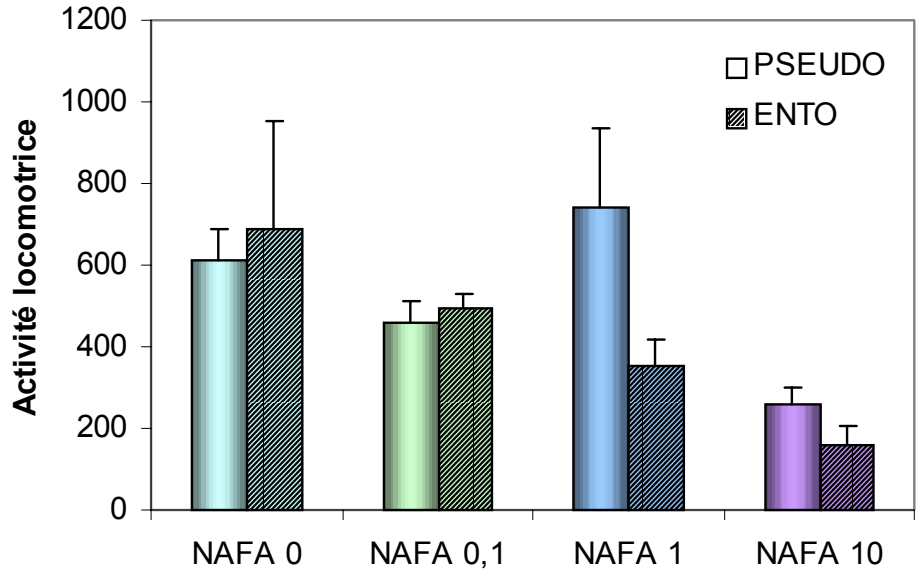


Figure 20.2 : Effet de la lésion du cortex entorhinal sur l'activité locomotrice induite par le nafadotride. Moyenne (± erreur type) du nombre de mouvements. *L'administration de nafadotride diminue l'activité locomotrice des animaux de façon dose-dépendante.*

Discussion

Les résultats de cette expérience montrent que la lésion du cortex entorhinal n'affecte pas la locomotion induite par la nouveauté (phase d'habituation) dans cette situation expérimentale. Ces résultats montrent également que le nafadotride à la concentration de 10 mg/kg diminue l'activité locomotrice mesurée dans un environnement rendu familier, mais aucune hyperactivité locomotrice n'a pu être mise en évidence aux autres concentrations. Enfin, il est important de remarquer qu'à la concentration de 1 mg/kg, les animaux lésés présentent une activité locomotrice différente de celle des animaux non lésés, bien que ceci ne soit pas soutenu d'un point de vue statistique.

La lésion du cortex entorhinal n'affecte pas l'activité locomotrice induite par la nouveauté. Ce résultat s'accorde certes avec de nombreuses études précédentes (Coutureau et coll., 1999 ; Coutureau et coll., 2000a ; Good et Honey, 1997 ; Ueki et coll., 1994), mais s'oppose au résultat de l'expérience 13. Cette divergence est d'autant plus troublante, que ce sont les mêmes animaux qui sont testés dans ces deux expériences. Plus frappant encore, seule une semaine sépare cette expérience de PostOPE 7 de l'expérience 13. De fait, seule la différence

de protocole comportemental peut rendre compte de cette divergence d'effet (voir discussion de l'expérience 13), confirmant ainsi que les effets de la lésion du cortex entorhinal ne peuvent être mis en évidence que lorsque le système méso-accumbens est fortement sollicité (voir discussion du chapitre 3). Cette divergence pourrait également être attribuée à des différences de dispositifs expérimentaux (notamment pour la méthode de détection des mouvements), seulement devant l'absence d'effet décrit dans le même dispositif mais avec un protocole autre (Coutureau et coll., 2000a), cette explication semble être réfutable. Il devient intéressant de noter que les absences d'effets obtenus par Coutureau et collaborateurs concernaient pour la plupart le dispositif utilisé dans cette expérience (Coutureau et coll., 1999 ; Coutureau et coll., 2002).

Dans cette expérience, nous n'avons pas pu mettre en évidence l'effet hyperlocomoteur du nafadotride à la concentration de 1 mg/kg (Sautel et coll., 1995b), et ce en accord avec d'autres études (Canales et Iversen, 2000 ; Clifford et Waddington, 1998). Bien que la littérature soit particulièrement controversée vis à vis des effets hyperlocomoteurs d'antagonistes des récepteurs D_3 (Boulay et coll., 1999 ; Xu et coll., 1999), notre résultat, ou plus exactement l'absence d'effet obtenue, pourrait s'expliquer par des conditions expérimentales non appropriées. Il est important de faire remarquer que ce composé est actif, au vu de la diminution de l'activité locomotrice induite à la concentration de 10 mg/kg. Par ailleurs, cette absence d'effet (à 0,1 et 1 mg/kg) a été répliquée dans une expérience similaire, non présentée dans ce mémoire. L'augmentation de l'activité locomotrice par le nafadotride observée par Sautel et collaborateurs (Sautel et coll., 1995b) l'a été chez des animaux habitués au dispositif expérimental, suggérant que l'habituation pourrait être critique dans les effets observés. Il a en effet été montré que l'hyperactivité induite par le nafadotride était plus prononcée chez des animaux habitués que chez des animaux qui ne l'étaient pas (Dall'Olio et coll., 2002). Cependant, Clifford et collaborateurs (Clifford et Waddington, 1998) n'observent pas d'effet du nafadotride (0,025 ; 0,1 ; 0,4 et 1,6 mg/kg) et ce malgré les 3 heures d'habituation précédant le test. Afin de vérifier l'importance du niveau d'habituation sur les effets du nafadotride (dans une expérience non décrite dans ce mémoire), nous avons administré le nafadotride (1 mg/kg) à des animaux présentant des niveaux d'habituation différents (2, 5, 8 et 11 heures réparties sur 1, 2, 3 et 4 jours, respectivement). Aucun effet n'a pu être observé. Dans une autre expérience (non présentée dans ce mémoire), nous avons également administré le nafadotride à des animaux non habitués à leur environnement. Aucun

effet n'a pu être observé. Devant ces tentatives infructueuses, nous avons modifié le délai séparant l'injection du début du test (0 minute dans cette expérience). En effet, dans les deux études décrivant un effet du nafadotride, ce dernier est administré 40, 50 ou 90 minutes avant le test, alors que dans les deux études décrivant l'absence d'effet du nafadotride, celui-ci est administré 0 ou 15 minutes avant le test. Néanmoins, nous n'avons obtenu aucun effet du nafadotride (1 mg/kg) lorsqu'il était administré 45 minutes avant placement de l'animal dans un environnement nouveau (aussi bien dans celui de cette expérience que dans le même que l'expérience 13 ; expérience non présenté dans ce mémoire). Enfin, il a été proposé que les effets de ligands des récepteurs D_3 seraient plus facilement observables en présence de niveaux élevés de dopamine (De Boer et coll., 1997). Nous avons donc entrepris d'évaluer les effets du nafadotride (1 mg/kg) après administration d'amphétamine (1 mg/kg ; expérience non présentée dans ce mémoire), et une fois encore, aucun effet du nafadotride n'a pu être observé (en accord avec Maj et coll., 1999).

Malgré l'absence manifeste d'hyperactivité locomotrice dans cette expérience, nous avons pu noter une différence entre les animaux lésés et leurs témoins non lésés. En effet, les animaux lésés présentent une activité locomotrice inférieure à celle de leurs témoins non lésés dans les groupe sous nafadotride à 1 mg/kg (bien que non significative). Ce résultat peut s'expliquer si l'on considère que le nafadotride présente une sélectivité partielle pour les récepteurs D_3. Comme explicité précédemment, il agit certes préférentiellement sur les récepteurs D_3, mais occupe également les récepteurs D_2, notamment à la concentration de 10 mg/kg (voir Levant et Vansell, 1997). Dans la mesure où le blocage des récepteurs D_3 produit sur l'activité locomotrice des effets opposés à celui du blocage des récepteurs D_2 (cf. introduction de ce chapitre), il est possible de spéculer que ces deux phénomènes seraient en compétition à la suite de l'administration de nafadotride, l'hypoactivité induite par le blocage des récepteurs D_2 l'emportant à forte concentration. Selon notre hypothèse formulée en introduction, la lésion du cortex entorhinal devait supprimer les effets du nafadotride liés au blocage des récepteurs D_3. Le comportement totalement différent à la concentration de 1 mg/kg des animaux lésés (hypoactivité, bien que non significatif) suggèrent que notre hypothèse serait valide. En effet, bien que non visible chez les animaux témoins, la composante d'hyperactivité liée au blocage des récepteurs D_3, semble avoir été supprimée chez les animaux lésés. Néanmoins, il faut reconnaître que l'absence d'hyperactivité clairement observable chez les animaux témoins affecte notre démonstration, ceci nécessitant

donc d'être réévalué. Or, devant l'impossibilité à obtenir une hyperactivité locomotrice avec le nafadotride (cf. paragraphe précédent) et les controverses entourant les effets d'antagonistes D_3 sur l'activité locomotrice, nous avons testé notre hypothèse sur l'hypoactivité induite par un agoniste des récepteurs D_3 (expérience suivante).

En résumé, les résultats de cette expérience montrent que les animaux lésés présentent une réaction différente au nafadotride de celle de leur témoins non lésés. Bien que cette différence aille dans le sens de notre hypothèse, à savoir que la lésion du cortex entorhinal affecterait l'intégrité fonctionnelle des récepteurs D_3, l'absence d'effet clairement attribué au blocage des récepteurs D_3 chez les animaux témoins (hyperactivité) diminue la force de la démonstration.

EXPERIENCE 21 : EFFET DE LA LESION DU CORTEX ENTORHINAL SUR L'HYPOACTIVITE LOCOMOTRICE INDUITE PAR LE PD128907

Introduction

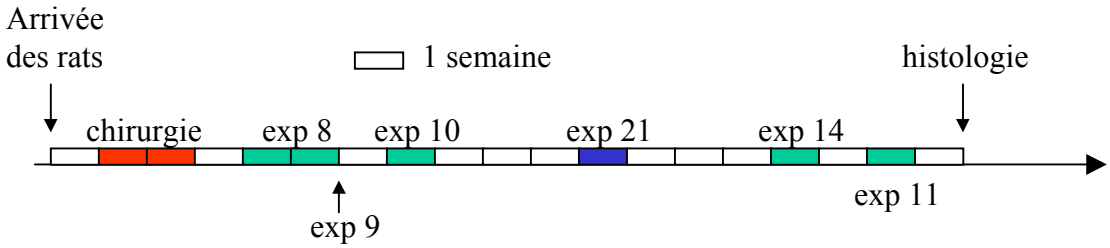
Le but de cette expérience est d'évaluer les effets de la lésion du cortex entorhinal sur la diminution d'activité locomotrice induite par le PD128907, un agoniste préférentiel des récepteurs D_3 (voir introduction de ce chapitre). Ce dernier induit des effets comportementaux qualitativement différents en fonction de la dose utilisée. Ainsi, à doses faibles (0,01 - 0,3 mg/kg), il diminue l'activité locomotrice, alors qu'à doses fortes (1 - 10 mg/kg), il présente un effet opposé, à savoir une augmentation de l'activité locomotrice (Pugsley et coll., 1995). Ce pattern comportemental biphasique du PD128907 découle de sa sélectivité partielle pour les récepteurs D_3, les effets hyperlocomoteurs produit à fortes concentrations résultant du blocage des récepteurs D_2 (voir introduction de ce chapitre).

Nous avons évalué les effets du PD128907 dans un environnement nouveau, les effets inhibiteurs (moteurs) d'agonistes des récepteurs D_3 étant plus facilement détectables dans un tel environnement (Pritchard et coll., 2003). Après avoir mis en évidence les effets hypolocomoteurs de ce composé dans notre dispositif expérimental (expérience non présentée dans ce mémoire), nous avons évalué les effets de la lésion du cortex entorhinal sur cette hypoactivité induite par le PD128907.

Matériel et méthodes

Animaux

Les rats sont les mêmes que ceux de l'expérience 8, qui ont également été utilisés dans les expériences 9, 10 et 11 (voir ci-après, l'expérience en cours étant figurée en bleu). A l'issue de l'expérience 11, les rats ont été déplacés dans une animalerie attenante à une autre salle d'expérience. Ils ont alors accès à la nourriture et à la boisson *ad libitum* pendant 3 semaines, leur poids moyen étant alors de 440 grammes. Les effectifs des différents groupes, à l'issue de la vérification histologique, sont les suivants : PSEUDO-PD 0 (n=13), PSEUDO-PD 0,025 (n=11), PSEUDO-PD0,05 (n=12), PSEUDO-PD 0,1 (n=13), ENTO-PD 0 (n=12), ENTO-PD 0,025 (n=8), ENTO-PD 0,05 (n=9) et ENTO-PD 0,1 (n=9).



Protocole

Le matériel est identique à celui de l'expérience 13.

Le protocole est identique à celui de l'expérience précédente, à l'exception de l'absence d'habituation. On procède à l'injection par voie intrapéritonéale, à raison de 1 ml/kg, du composé pharmacologique, puis l'animal est placé immédiatement dans un compartiment et son activité locomotrice est comptabilisée pendant 1 heure.

Le (+)-PD 128907 (Tocris) est dissous dans du NaCl 0,9% de façon à obtenir les concentrations suivantes: 0 ; 0,025 ; 0,05 et 0,1 mg/kg.

Analyse des données

L'activité totale (1 heure) fait l'objet d'une ANOVA à deux facteurs (facteur Lésion [PSEUDO ; ENTO] et facteur Traitement à 4 niveaux [PD 0 ; PD 0,025 ; PD 0,05 ; PD 0,1]). Les différences entre les groupes sont établies par des comparaisons *post-hoc* avec le test de Newman-Keuls.

Résultats

La figure 21.1 représente l'activité locomotrice totale (1 heure) pour l'ensemble des groupes. Le PD128907 semble diminuer l'activité locomotrice de façon dose dépendante, cet effet étant similaire chez les animaux PSEUDO et chez les animaux ENTO. L'ANOVA révèle un effet du facteur Traitement ($F(3,79)=3,40$, $p<0,05$), mais pas du facteur Lésion ($F(1,79)=0,22$, ns), ni de l'interaction entre ces deux facteurs ($F(3,79)=0,59$, ns). L'analyse *post-hoc* sur le facteur Traitement indique que le groupe PD 0,1 diffère du groupe PD 0 ($p<0,05$) et que le groupe PD 0,05 tend à différer du groupe PD 0 ($p=0,09$). L'analyse *post-hoc* de comparaisons multiples entre groupes ne révèle aucune différence entre les groupes.

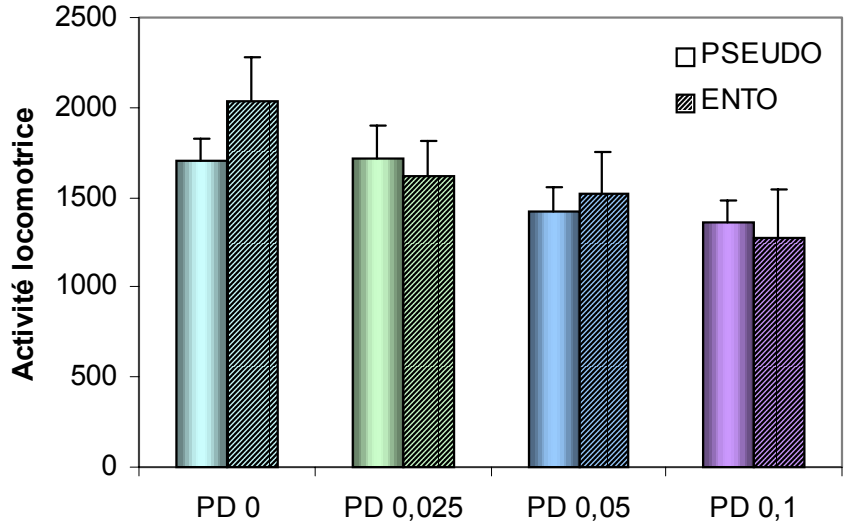


Figure 21.1 : Effet de la lésion du cortex entorhinal sur l'hypoactivité locomotrice induite par le PD128907. Moyenne (± erreur type) du nombre de mouvements. *L'administration du PD128907 diminue l'activité locmotrice des animaux de façon dose-dépendante.*

Discussion

Les résultats de cette expérience montrent que le PD128907 diminue l'activité locomotrice, et que la lésion du cortex entorhinal n'affecte pas l'hypoactivité locomotrice induite par ce composé.

En accord avec la littérature, le PD128907 diminue l'activité locomotrice induite par la nouveauté (Heijtz et coll., 2000 ; Khroyan et coll., 1997 ; Prinssen et coll., 1998 ; Pugsley et ., 1995) et ce vraisemblablement par l'activation des récepteurs D_3 (Pritchard et coll., 2003, mais Boulay et coll., 1999 ; Xu et coll., 1999) dans le noyau accumbens (Ouagazzal et Creese, 2000). Cette hypoactivité locomotrice semble résultat d'une action au niveau postsynaptique (voir introduction du chapitre), comme l'indique également le fait que cette hypoactivité soit induite à des doses n'affectant pas l'accumulation de DOPA induite par l'administration de γ-butyrolactone (Bristow et coll., 1996). Cependant, certains ont noté que la diminution de locomotion se faisait de façon concomitante à une diminution de la libération de dopamine (De Boer et coll., 1997), et ce vraisemblablement *via* les récepteurs D_3 (Zapata et coll., 2001, mais Ekman et coll., 1998). Il semblerait cependant que cette diminution de la libération de dopamine n'implique pas une action sur des autorécepteurs situés sur les terminaisons dopaminergiques, mais plutôt un mécanisme impliquant un rétrocontrôle activé

postsynaptiquement (Koeltzow et coll., 1998). Il est donc raisonnable d'attribuer la diminution d'activité locomotrice induite par le PD128907 que nous obtenons, à la stimulation des récepteurs D_3 situés au niveau postsynaptique dans le noyau accumbens.

La lésion du cortex entorhinal n'affecte pas l'hypoactivité induite par le PD128907. Ce résultat suggère que la lésion du cortex entorhinal n'altère pas l'expression des récepteurs D_3. Les effets précédemment observés pourraient alors résulter d'une perte de l'arrivée glutamatergique (cf. discussion de l'expérience 19). La projection entorhino-accumbens fournit une arrivée glutamatergique excitatrice tonique au niveau postsynaptique (Finch et coll., 1995). La projection tegmento-accumbens, quant à elle, produit une inhibition postsynaptique *via* les récepteurs D_3 dont la plupart, au niveau du noyau accumbens, est occupée par la dopamine endogène (Stanwood et coll., 2000). Ces deux systèmes interagissent donc de façon opposée, produisant probablement un équilibre. Le blocage des récepteurs D_3 par le nafadotride, en levant l'inhibition tonique exercée par la dopamine, perturbe cet équilibre, et ce en faveur de l'excitation exercée par le cortex entorhinal, conduisant par exemple à l'expression du gène *c-fos* (expérience 19). Cette activation peut être bloquée par la suppression de la composante excitatrice, comme dans le cas de la lésion du cortex entorhinal, ceci s'observant par la suppression de l'expression de *c-fos* induite par le nafadotride (expérience 19). Dans le cas du PD128907, l'équilibre devrait également être rompu, mais en faveur cette fois-ci d'une inhibition. De fait, la perte de la composante excitatrice consécutive à la lésion du cortex entorhinal devrait augmenter ce déséquilibre et faciliter l'action inhibitrice du PD128907. Ceci n'a cependant pu être observé dans cette expérience. Il a été montré que le blocage des récepteurs NMDA n'affecte pas l'hypoactivité locomotrice induite par la 7-OH-DPAT, un autre agoniste des récepteurs D_3 (Dall'olio et coll., 1997). Ce dernier résultat suggère que les effets hypolocomoteurs des agonistes des récepteurs D_3 ne dépendraient pas des afférences glutamatergiques excitatrices, ceci pouvant rendre compte de l'absence d'effet de la lésion du cortex entorhinal sur l'hypoactivité locomotrice induite par le PD128907 observée dans l'expérience présente.

En résumé, les résultats de cette expérience montrent que la lésion du cortex entorhinal n'affecte pas la diminution d'activité locomotrice induite par la stimulation des récepteurs D_3.

DISCUSSION

Les expériences décrites dans ce chapitre avaient pour but d'évaluer les effets de la lésion du cortex entorhinal sur l'intégrité fonctionnelle des récepteurs D_3. Comme mentionné dans l'introduction de ce chapitre, la plupart des effets induits par la lésion du cortex entorhinal (expériences décrites dans ce mémoire), s'accorderaient avec la perte des récepteurs D_3. Les données relatives à la régulation de l'expression des récepteurs D_3 indiquant que l'expression de ce récepteur dépend de la présence de BDNF transporté par voie antérograde, et dans la mesure où le cortex entorhinal, qui projette vers les régions exprimant le récepteur D_3, contient des cellules exprimant du BDNF, il devenait envisageable que la lésion du cortex entorhinal produise une diminution de l'expression du récepteur D_3. Les données obtenues à l'issue de ce chapitre ne soutiennent cependant pas cette hypothèse.

Alors que l'activation (tout au moins l'expression de *c-fos*) induite par le nafadotride est supprimée par la lésion, l'inhibition (activité locomotrice) induite par le PD128907 ne l'est pas. Alors qu'il est possible d'expliquer le premier résultat par une altération des récepteurs D_3 suite à la lésion du cortex entorhinal, ceci est impossible pour le deuxième résultat, puisque dans ce cas, on aurait du observer une suppression de l'hypoactivité locomotrice induite par le PD128907. Par contre, comme discuté précédemment, ces deux résultats s'accordent avec l'idée d'une interaction à un niveau postsynaptique entre l'influence inhibitrice de la dopamine *via* les récepteurs D_3 et l'influence excitatrice des projections entorhinales. Il est d'ailleurs intéressant de noter que d'un point de vu anatomique, la distribution des projections du cortex entorhinal coïncide avec la distribution des récepteurs D_3, tout au moins au niveau du striatum. En effet, le cortex entorhinal innerve la partie médiane du noyau accumbens *shell*, et le noyau caudé-putamen le long du ventricule latéral et sous le corps calleux (voir la figure 5d de Totterdell et Meredith, 1997) et donc les zones où le récepteur D_3 est exprimé (Le Moine et Bloch, 1996, voir également la figure 5a de Diaz et coll., 2000). Il n'existe cependant aucune donnée permettant de conclure à une innervation préférentielle par le cortex entorhinal des neurones exprimant les récepteurs D_3.

Les conclusions de ce chapitre sont basés sur des résultats obtenus avec des composés présentant une sélectivité préférentielle pour les récepteurs D_3, mais une action sur les récepteurs D_2 ne doit pas être écartée (notamment dans le cas du nafadotride). De plus, ces

composés ont été décrits comme présentant une forte sélectivité pour les récepteurs D_3 dans les études *in vitro* (voir introduction de ce chapitre), cette sélectivité étant moins marquée *in vivo* (6 fois dans le cas du PD128907 et 2,3 fois dans le cas du nafadotride ; Flietstra et Levant, 1998). Enfin, l'implication des récepteurs D_3 dans la locomotion est particulièrement controversée, tout comme l'est l'attribution des effets moteurs induits par le PD128907 et le nafadotride, à une action sur les récepteurs D_3 (Boulay et coll., 1999 ; Xu et coll., 1999). Pour ces raisons, les résultats de ce chapitre doivent être considérés avec précaution. Toujours est-il que l'idée selon laquelle la lésion du cortex entorhinal entraînerait la perte d'une influence excitatrice sur les neurones exprimant les récepteurs D_3, permet de rendre compte d'une grande partie de nos résultats, notamment ceux concernant l'expression du gène *c-fos*. Il est aisé d'admettre que le nafadotride augmente l'expression de *c-fos* dans les neurones exprimant les récepteurs D_3. C'est le cas également pour la clozapine (Guo et coll., 1995 ; Guo et coll., 1998 ; Vahid-Ansari et Robertson, 1996, mais Carta et Gerfen, 1999). Il a été montré que l'halopéridol, la clozapine et un antagoniste des récepteurs D_3 induisaient l'expression de *c-fos* dans des neurones similaires au niveau striatal (Kovacs et coll., 2001) suggérant que l'halopéridol puisse également cibler des neurones exprimant les récepteurs D_3, même si cette proposition n'est pas soutenue par d'autres études (Guo et coll., 1998 ; Vahid-Ansari et Robertson, 1996). Quant à l'olanzapine, il est vraisemblable qu'elle présente des cibles communes avec les deux autres composés antipsychotiques. Les récepteurs D_3 sont certes fortement co-localisés avec les récepteurs D_1 (cf. introduction de ce chapitre), mais il est important de rappeler qu'une partie des neurones exprimant les récepteurs D_2 expriment également les récepteurs D_3 (Le Moine et Bloch, 1996). De fait, il est possible que la perte de l'influence excitatrice exercée par le cortex entorhinal sur ces neurones co-exprimant les récepteurs D_2 et D_3, puisse également affecter les comportements induits par la stimulation des récepteurs D_2. Dans ce cas de figure, la perte d'une influence excitatrice, vient renforcer l'effet exercé par la dopamine, à savoir une inhibition au niveau cellulaire, mais se traduisant par une activation comportementale. C'est probablement ce qui se produit dans le cas de nos expériences sur l'activité locomotrice. Par ailleurs dans ces expériences, les effets de la lésion du cortex entorhinal n'étant mis en évidence que lorsque l'activité méso-accumbens est fortement sollicitée, il est vraisemblable que la contribution (rôle de tampon) des récepteurs D_3 (notamment ceux co-localisés avec les récepteurs D_1) ne soit que minime.

DISCUSSION GENERALE

Ce travail de thèse visait à identifier le(s) mécanisme(s) impliqué(s) dans le déficit d'inhibition latente induit par la lésion du cortex entorhinal. Il a permis d'apporter quelques éclaircissements quant au rôle du cortex entorhinal dans l'inhibition latente, ou plus exactement sur les mécanismes impliqués dans les effets délétères de sa lésion, et ce aussi bien d'un point de vu neurobiologique que psychoexpérimental. La plupart des résultats ayant été discutés indépendamment au sein des différents chapitres, nous nous proposons essentiellement d'en tirer une conclusion générale reprenant quelques points importants :

- la facilitation de conditionnement induite par la lésion,
- l'interaction entorhino-amygdale probablement impliquée dans cet effet,
- l'altération du fonctionnement du système méso-accumbens,
- le lien probable existant entre les récepteurs D_3 et le cortex entorhinal,
- et enfin, le rôle joué par le cortex entorhinal dans l'inhibition latente.

Le déficit d'inhibition latente induit par la lésion du cortex entorhinal a déjà été décrit à maintes reprises, et notre travail ne remet aucunement en cause ce résultat. Par contre, il soulève quelques interrogations quant à sa pertinence en regard de la schizophrénie (voir conclusion de Weiner, 2003). Weiner souligne que toutes les manipulations entraînant une altération de l'inhibition latente ne sont pas nécessairement pertinentes en regard de la schizophrénie, puisque l'inhibition latente est avant tout un paradigme d'apprentissage et, en tant que tel, peut être affecté *via* une altération de l'apprentissage, de la mémoire, ou même du comportement moteur. C'est précisément ce qui nous pose problème, puisque nous avons non seulement pu mettre en évidence que la lésion du cortex entorhinal produisait une facilitation de la réponse émotionnelle conditionnée, mais qu'une facilitation de cette ampleur était suffisante pour entraîner un déficit d'inhibition latente. Bien que nous ne l'ayons pas démontré directement, il est alors possible d'inférer que le déficit d'inhibition latente induit par la lésion du cortex entorhinal pourrait résulter de la facilitation de conditionnement induite par cette même lésion. Alors que les théories attentionnelles ont occupé une place importante dans les explications théoriques du phénomène d'inhibition latente (Lubow et coll., 1976), il a récemment été suggéré que l'inhibition latente devrait être considérée comme une forme de compétition associative plutôt qu'un phénomène d'attention (Escobar et coll., 2002b). D'ailleurs, la plupart des modèles actuels stipulent que l'inhibition latente dépendrait de l'impact relatif de ce qui est appris lors de la phase de préexposition et de ce qui est appris lors de la phase de conditionnement, et ce quel que soit le moment où cette "comparaison" se

produit (lors de l'acquisition ou lors du rappel). Nous proposons que la lésion du cortex entorhinal perturbe l'équilibre existant entre l'impact de la préexposition et celui du conditionnement, et ce en faveur du conditionnement, conduisant ainsi à une suppression d'inhibition latente. Comme nous l'avons déjà mentionné, ce mécanisme a déjà été proposé pour rendre compte de la suppression d'inhibition latente induite par l'amphétamine (Killcross et coll., 1994). Enfin, il est important de noter que les données obtenues suite à l'inactivation réversible du cortex entorhinal suggèrent que le déficit d'inhibition latente induit par la lésion du cortex entorhinal pourrait également résulter d'un autre mécanisme (ce dernier sera discuté ultérieurement).

La facilitation de conditionnement induite par la lésion du cortex entorhinal n'a pas pu être expliquée par une modification du seuil de réactivité à des chocs électriques, ni par une modification des niveaux d'anxiété et de stress. Compte tenu du rôle central attribué à l'amygdale dans la peur conditionnée (pour revue, voir Fendt et Fanselow, 1999 ; Maren, 2001) et la forte connexion anatomique existant entre le cortex entorhinal et l'amygdale (voir introduction générale), il convient de s'interroger sur l'implication probable d'une interaction entorhino-amygdale dans l'effet obtenu. Par ailleurs, il a récemment été montré que la connexion réciproque (amygdalo-entorhinale) était activée pendant l'acquisition de la peur conditionnée (Majak et Pitkanen, 2003). Par ailleurs, il a été montré que la facilitation d'aversion olfactive conditionnée obtenue suite à la lésion du cortex entorhinal pouvait être compensée par une infusion de muscimol (agoniste des récepteurs $GABA_A$) dans l'amygdale basolatérale (Ferry et coll., 1999). De même, il a été montré que la facilitation de mémoire (consolidation dans une situation d'évitement inhibiteur) induite par l'infusion d'un analogue de l'AMPc dans le cortex entorhinal pouvait être bloquée par une lésion de l'amygdale basolatérale (Roesler et coll., 2002). Le cortex entorhinal exerce un contrôle inhibiteur sur les neurones de l'amygdale basolatérale (Brothers et Finch, 1985 ; Ferry et coll., 1997), et ce probablement *via* l'activation d'interneurones GABAergiques. Dès lors, il est concevable que les effets de la lésion du cortex entorhinal sur le conditionnement résultent de la perte de cette composante inhibitrice. Il est également possible d'imaginer un mécanisme impliquant l'activité dopaminergique au sein de cette structure. Il a en effet été montré que l'application de chocs électriques aux pattes entraîne une augmentation de la concentration extracellulaire de dopamine dans l'amygdale basolatérale (Young et Rees, 1998) et qu'une lésion du cortex entorhinal augmente cette libération (Uehara et coll., 2003). En accord avec cette dernière

proposition, il a été montré que le déficit d'inhibition latente induit par la lésion du cortex entorhinal peut être compensé par des composés antipsychotiques (Coutureau et coll., 2000b ; Yee et coll., 1995a), et ce probablement par le blocage des récepteurs à la dopamine. Il ne faut cependant pas oublier que ceci (activité dopaminergique exacerbée chez les animaux lésés d'une part, et compensation par les antipsychotiques d'autre part) peut également s'appliquer au niveau de l'activité dopaminergique méso-accumbens (voir discussion du chapitre 2).

Les modèles neurobiologiques de l'inhibition latente attribuent un rôle central à l'innervation dopaminergique au sein du noyau accumbens, l'activité de ce dernier étant modulée par les afférences glutamatergiques corticales (Schmajuk et coll., 2001 ; Weiner, 2003). Dès lors, il convenait d'évaluer les effets de la lésion du cortex entorhinal sur ce système. Nos résultats indiquent que la lésion du cortex entorhinal affecte le fonctionnement du système dopaminergique méso-accumbens, tout au moins lorsque celui-ci est évalué par des mesures de l'activité locomotrice. De plus, il semblerait que les effets de la lésion ne puissent être mis en évidence que lorsque ce système est fortement sollicité, comme lors d'une exposition à un environnement nouveau. Et enfin, nos résultats suggèrent que l'interaction entre la transmission dopaminergique méso-accumbens et le cortex entorhinal se situe à un niveau postsynaptique. Il existe cependant de nombreuses données indiquant une altération de la libération de dopamine dans le noyau accumbens à la suite de différentes manipulations réalisées au niveau du cortex entorhinal (Louilot et Le Moal, 1994 ; Louilot et Choulli, 1997 ; Saigusa et coll., 1997 ; Uehara et coll., 2000). Plus spécifiquement, il semblerait que le cortex entorhinal exerce un contrôle excitateur sur la transmission dopaminergique méso-accumbens (Louilot et Le Moal, 1994 ; Todd et Grace, 1999). Cependant, il n'a pas encore été établi, si ce contrôle emprunte une voie entorhino-accumbo-tegmentale (une projection directe vers l'aire tegmentale ventrale n'étant pas soutenue d'un point de vue anatomique) ou fait intervenir une autre voie, *via* l'amygdale par exemple. Il est possible d'envisager que les projections du cortex entorhinal viennent cibler les terminaisons dopaminergiques au sein du noyau accumbens, mais nos résultats privilégieraient plutôt une interaction entre ces deux systèmes afférents à un niveau postsynaptique sur les neurones épineux de taille moyenne.

La lésion du cortex entorhinal ne modifie pas seulement le fonctionnement du noyau accumbens (ou de l'amygdale), mais semble affecter un ensemble de structures cérébrales, toutes ayant été décrites comme exprimant le récepteur D_3 à la dopamine. Sur la base de

plusieurs arguments exposés dans l'introduction du chapitre 4, nous avons alors émis l'hypothèse selon laquelle la lésion du cortex entorhinal modifierait le fonctionnement et/ou l'expression des récepteurs D_3. Cette hypothèse est particulièrement attractive si l'on considère qu'il a été proposé que les récepteurs D_3 exerceraient un rôle de tampon, augmentant le seuil de réponse de la dopamine (Schwartz et coll., 1998). Ainsi, pour un niveau de dopamine relativement faible, la plus forte affinité de celle-ci pour les récepteurs D_3 prédit une occupation majeure de ces récepteurs par rapports aux autres récepteurs postsynaptiques (D_1 et D_2), conduisant à un effet inhibiteur *via* la stimulation des récepteurs D_3 prépondérant. Par contre, pour un niveau de dopamine plus élevé, cette occupation inégale n'a plus lieu et, du fait de leur densité plus importante, l'action des récepteurs D_1 et D_2 l'emporte (voir Richtand et coll., 2001a ; Richtand et coll., 2001b). Il devient alors aisé d'imaginer que la perte de ce dispositif de tampon pourrait conduire le système à répondre de façon anormalement élevée. Au niveau de la partie *shell* du noyau accumbens, où les D_3 sont fortement exprimés, la transmission dopaminergique semble jouer un rôle essentiel dans l'inhibition latente (Jeanblanc et coll., 2002 ; Murphy et coll., 2000). Selon le modèle du *switching* (Weiner, 2003), une augmentation du niveau de dopamine dans la partie *shell* du noyau accumbens faciliterait le basculement et de ce fait supprimerait l'inhibition latente. Un système dépourvu de récepteur D_3 pourrait conduire à une réponse exacerbée pour un même niveau de dopamine, conduisant également à un déficit d'inhibition latente. Plus généralement, il a été proposé qu'une des fonctions de la partie *shell* du noyau accumbens serait de filtrer les réponses comportementales à des stimuli émotionnels en contrôlant l'intensité du stimulus nécessaire pour produire l'expression comportementale appropriée (Barrot et coll., 2002). La perte du rôle de tampon exercé par les récepteurs D_3 conduirait donc le système à répondre de façon non appropriée à des stimuli insignifiants. Une prédiction similaire (réponse à des stimuli insignifiants) a été également proposée à la suite de la perturbation des systèmes glutamatergiques afférents au noyau accumbens (Grace, 2000). Cependant, bien que cette hypothèse soit particulièrement attractive, les expériences que nous avons conduites n'ont pas pu mettre en évidence d'altération claire de l'intégrité fonctionnelle du récepteur D_3, suggérant plutôt une relation anatomique étroite entre les projections entorhinales et la distribution de ce récepteur. Compte tenu de l'importance croissante attribuée à l'implication des récepteurs D_3 dans la schizophrénie ou dans l'action des antipsychotiques (Fink-Jensen, 2000 ; Schwartz et coll., 2000), il serait particulièrement intéressant d'établir si les neurones cibles des projections entorhinales expriment ce récepteur.

Suite à l'abolition d'un phénomène comportemental induite par la lésion d'une structure donnée, il est généralement conclu que cette structure joue un rôle actif dans l'expression de ce comportement. Ce même raisonnement qui a poussé certains à conclure quant à l'implication du cortex entorhinal dans l'inhibition latente, nous a conduit à proposer que le déficit d'inhibition latente induit par la lésion du cortex entorhinal pourrait tout simplement résulter de la facilitation de conditionnement induite par cette même lésion. Or, les données obtenues consécutivement à l'inactivation réversible du cortex entorhinal, nous ont permis également de mettre en évidence un second mécanisme ne faisant pas intervenir de facilitation de conditionnement. Nous avons ainsi montré que non seulement le cortex entorhinal était impliqué dans l'inhibition latente, mais que l'intégrité fonctionnelle de cette structure était requise lors de la phase de préexposition. A ce titre, il est important de noter que ceci a d'ores et déjà été proposé par divers modèles d'inhibition latente. Ainsi, le modèle SLG (Schmajuk et coll., 2001) stipule que le cortex entorhinal est activé lors de la préexposition (lorsque la prédiction du SC par le contexte est augmentée). En fait, selon ce modèle, le cortex entorhinal calculerait les prédictions totales du SC (prédictions du SC par le SC et par le contexte), du contexte (prédictions du contexte par le contexte et par le SC), et également du SI (prédictions du SI par le contexte et par le SC). De même, le modèle du *switching* (Weiner, 2003) pose comme postulat que le cortex entorhinal encoderait la contingence stimulus – pas d'événement lors de la préexposition. Enfin, dans leur modèle, Gluck et Myers (Gluck et Myers, 2001) proposent que le cortex entorhinal serait responsable de la compression de la représentation du SC avec celle du contexte. Bien qu'il soit tentant de spéculer quant au rôle précis joué par le cortex entorhinal lors de la phase de préexposition, il serait prématuré d'émettre une conclusion à ce sujet, étant donné l'absence de consensus sur ce qui est "appris" lors de cette phase.

Notre travail de thèse a soulevé un problème fondamental rencontré avec l'approche lésionnelle, à savoir l'impossibilité de dissocier les effets attribués à la perte de la structure à proprement parler, de ceux résultant des conséquences de celle-ci (réorganisations anatomo-fonctionnelles). Pour illustrer ce propos, j'aimerais traduire une histoire relatée à propos d'une famille par Izquierdo et Medina dans leur article intitulé "On brain lesions, the milkman and Sigmunda" (Izquierdo et Medina, 1998).

« Il y avait le père, la mère et trois enfants. Ils s'aimaient tous beaucoup les uns les autres, et la fille, Sigmunda, était particulièrement attachée à son père. Nous [les auteurs] les voyions souvent, et étions très impressionnés par les forts liens d'amour entre eux. Le rôle dominant du père était remarquable. Par amour et respect, personne ne semblait capable de faire quoi que ce soit sans lui demander au préalable. Un jour le père mourut. Nous leurs rendions visite la semaine suivante. Tous étaient au désespoir, la mère ne pouvait s'arrêter de pleurer, Sigmunda avait tenté de se suicider, et les deux garçons étaient obstinément silencieux. La maison avait l'air minable et l'un d'entre nous avait dû leur prêter quelques dollars de sorte qu'ils puissent s'acheter de la nourriture. Puis nous leur avons à nouveau rendu visite un an plus tard. La maison avait été repeinte et redécorée. La mère entretenait une histoire d'amour agitée avec le laitier. Sigmunda était enceinte et sur le point de partir vivre avec un guitariste de rock. Le plus vieux des deux garçons avait repris l'épicerie familiale et l'avait transformée en un mini-marché qui avait un fort succès. Son frère jouait à des jeux vidéos. Tous avaient l'air prospères. Personne ne semblait se souvenir beaucoup du père, excepté des épisodes isolés comme le jour où il avait emmené les fils pour la première fois au zoo. Sigmunda disait que le jour où il était mort il pleuvait à verse ; la mère le niait. Le portrait du père, sur le mur, avait au moins 20 ans. Ainsi, il y avait un gradient d'amnésie rétrograde dans la famille, qui semblait différer quelque peu d'un membre à un autre.

Si nous ne les connaissions pas depuis longtemps, nous n'aurions jamais été capables de deviner quoi que ce soit à propos du rôle réel du père dans cette famille de nos deux dernières visites. Il y avait des liens étroits entre le père et chacun des membres de la famille quand il était vivant ; mais quand il mourut, après une période d'angoisse et de bouleversement, les liens avaient été manifestement modifiés et des gens externes au noyau familial originel commençaient à jouer un rôle. Un observateur non informé aurait probablement conclu de la

première visite que le rôle du père était irremplaçable. Un autre aurait probablement conclu de la deuxième visite que son rôle n'avait pas été important et, en fait, quelque peu inhibiteur. Les deux observateurs, bien évidemment, se seraient complètement trompés.»

BIBLIOGRAPHIE

-A-

Ackil JE, Mellgren RL, Halgren C, Frommer GP (1969) Effects of CS preexposures on avoidance learning in rats with hippocampal lesions. J Comp Physiol Psychol 69 : 739-747.

Aghajanian GK, Marek GJ (2000) Serotonin model of schizophrenia : emerging role of glutamate mechanisms. Brain Res Brain Res Rev 31 : 302-312.

Aguado L, San Antonio A, Perez L, del Valle R, Gomez J (1994a) Effects of the NMDA receptor antagonist ketamine on flavor memory : conditioned aversion, latent inhibition, and habituation of neophobia. Behav Neural Biol 61 : 271-281.

Aguado L, Symonds M, Hall G (1994b) Interval between preexposure and test determines the magnitude of latent inhibition : implication for an interference account. Anim Learn Behav 22 : 188-194.

Aizman O, Brismar H, Uhlen P, Zettergren E, Levey AI, Forssberg H, Greengard P, Aperia A (2000) Anatomical and physiological evidence for D_1 and D_2 dopamine receptor colocalization in neostriatal neurons. Nat Neurosci 3 : 226-230.

Akil M, Edgar CL, Pierri JN, Casali S, Lewis DA (2000) Decreased density of tyrosine hydroxylase-immunoreactive axons in the entorhinal cortex of schizophrenic subjects. Biol Psychiatry 47 : 361-370.

Akil M, Lewis DA (1997) Cytoarchitecture of the entorhinal cortex in schizophrenia. Am J Psychiatry 154 : 1010-1012.

Albert M, Ayres JJB (1989) With number of preexposures constant latent inhibition increases with preexposure CS duration or total CS exposure. Learn Motiv 20 : 278-294.

Alonso A, Kohler C (1984) A study of the reciprocal connections between the septum and the entorhinal area using anterograde and retrograde axonal transport methods in the rat brain. J Comp Neurol 225 : 327-343.

Altar CA, Cai N, Bliven T, Juhasz M, Conner JM, Acheson AL, Lindsay RM, Wiegand SJ (1997) Anterograde transport of brain-derived neurotrophic factor and its role in the brain. Nature 389 : 856-860.

Amaral DG, Witter MP (1995) Hippocampal Formation. *In* The rat nervous system, 2nd edition, pp 443-493. Ed G. Paxinos. Academic Press, San Diego

Andrade TG, Graeff FG (2001) Effect of electrolytic and neurotoxic lesions of the median raphe nucleus on anxiety and stress. Pharmacol Biochem Behav 70 : 1-14.

Andreasen NC, O'Leary DS, Flaum M, Nopoulos P, Watkins GL, Boles Ponto LL, Hichwa RD (1997) Hypofrontality in schizophrenia : distributed dysfunctional circuits in neuroleptic-naive patients. Lancet 349 : 1730-1734.

Andreatini R, Leite JR (1994) Evidence against the involvement of ACTH/CRF release or corticosteroid receptors in the anxiolytic effect of corticosterone. Braz J Med Biol Res 27 : 1237-1241.

Angulo JA, McEwen BS (1994) Molecular aspects of neuropeptide regulation and function in the corpus striatum and nucleus accumbens. Brain Res Brain Res Rev 19 : 1-28.

Annau Z, Kamin LJ (1961) The conditioned emotional response as a function of intensity of the US. J Comp Physiol Psychol 54 : 428-32.

Arnold SE (2000) Cellular and molecular neuropathology of the parahippocampal region in schizophrenia. Ann N Y Acad Sci 911 : 275-92.

Arnold SE, Hyman BT, Van Hoesen GW, Damasio AR (1991) Some cytoarchitectural abnormalities of the entorhinal cortex in schizophrenia. Arch Gen Psychiatry 48 : 625-632.

Arnold SE, Ruscheinsky DD, Han LY (1997) Further evidence of abnormal cytoarchitecture of the entorhinal cortex in schizophrenia using spatial point pattern analyses. Biol Psychiatry 42 : 639-647.

Asin KE, Wirtshafter D, Kent EW (1980) The effects of electrolytic median raphe lesions on two measures of latent inhibition. Behav Neural Biol 28 : 408-417.

Audinot V, Newman-Tancredi A, Gobert A, Rivet JM, Brocco M, Lejeune F, Gluck L, Desposte I, Bervoets K, Dekeyne A, Millan MJ (1998) A comparative in vitro and in vivo pharmacological characterization of the novel dopamine D_3 receptor antagonists

(+)-S 14297, nafadotride, GR 103,691 and U 99194. J Pharmacol Exp Ther 287 : 187-197.

Augood SJ, Westmore K, Emson PC (1997) Phenotypic characterization of neurotensin messenger RNA-expressing cells in the neuroleptic-treated rat striatum: a detailed cellular co- expression study. Neuroscience 76 : 763-774.

Ayres JJB, Philbin D, Cassidy S, Bellino L (1992) Some parameters of latent inhibition. Learn Motiv 23 : 269-287.

-B-

Bachus SE, Hyde TM, Herman MM, Egan MF, Kleinman JE (1997) Abnormal cholecystokinin mRNA levels in entorhinal cortex of schizophrenics. J Psychiatr Res 31 : 233-256.

Badiani A, Anagnostaras SG, Robinson TE (1995a) The development of sensitization to the psychomotor stimulant effects of amphetamine is enhanced in a novel environment. Psychopharmacology (Berl) 117 : 443-452.

Badiani A, Browman KE, Robinson TE (1995b) Influence of novel versus home environments on sensitization to the psychomotor stimulant effects of cocaine and amphetamine. Brain Res 674 : 291-298.

Badiani A, Oates MM, Day HE, Watson SJ, Akil H, Robinson TE (1998) Amphetamine-induced behavior, dopamine release, and c-fos mRNA expression : modulation by environmental novelty. J Neurosci 18 : 10579-10593.

Badiani A, Oates MM, Fraioli S, Browman KE, Ostrander MM, Xue CJ, Wolf ME, Robinson TE (2000) Environmental modulation of the response to amphetamine : dissociation between changes in behavior and changes in dopamine and glutamate overflow in the rat striatal complex. Psychopharmacology (Berl) 151 : 166-174.

Baldi E, Ambrogi LC, Sacchetti B, Tassoni G, Bucherelli C (1998) Entorhinal cortex and fimbria-fornix role in rat's passive avoidance response memorization. Brain Res 799 : 270-277.

Baldi E, Ambrogi LC, Sacchetti B, Tassoni G, Bucherelli C (1999) Effects of combined medial septal area, fimbria-fornix and entorhinal cortex tetrodotoxin inactivations on passive avoidance response consolidation in the rat. Brain Res 821 : 503-510.

Baldi E, Ambrogi LC, Sacchetti B, Tassoni G, Bucherelli C (2000) Effects of coupled perirhinal cortex and medial septal area, fimbria-fornix, entorhinal cortex tetrodotoxin inactivations on passive avoidance consolidation in the rat. Neurosci Lett 280 : 91-94.

Balezina NP, Markowska A, Werka T, Zielinski K (1981) Conditioned emotional response after dorsohippocampal, ventrohippocampal or entorhinal cortical lesions in rats. Acta Neurobiol Exp (Warsz) 41 : 605-617.

Bancroft GN, Morgan KA, Flietstra RJ, Levant B (1998) Binding of [3H]PD 128907, a putatively selective ligand for the D_3 dopamine receptor, in rat brain: a receptor binding and quantitative autoradiographic study. Neuropsychopharmacology 18 : 305-316.

Bannerman DM, Yee BK, Lemaire M, Jarrard L, Iversen SD, Rawlins JN, Good MA (2001) Contextual fear conditioning is disrupted by lesions of the subcortical, but not entorhinal, connections to the hippocampus. Exp Brain Res 141 : 304-311.

Bardgett ME, Jackson JL, Taylor GT, Csernansky JG (1995) Kainic acid decreases hippocampal neuronal number and increases dopamine receptor binding in the nucleus accumbens: an animal model of schizophrenia. Behav Brain Res 70 : 153-164.

Bardo MT (1998) Neuropharmacological mechanisms of drug reward: beyond dopamine in the nucleus accumbens. Crit Rev Neurobiol 12 : 37-67.

Bardo MT, Bevins RA (2000) Conditioned place preference: what does it add to our preclinical understanding of drug reward? Psychopharmacology (Berl) 153 : 31-43.

Bardo MT, Bowling SL, Pierce RC (1990) Changes in locomotion and dopamine neurotransmission following amphetamine, haloperidol, and exposure to novel environmental stimuli. Psychopharmacology (Berl) 101 : 338-343.

Bardo MT, Rowlett JK, Harris MJ (1995) Conditioned place preference using opiate and stimulant drugs: a meta-analysis. Neurosci Biobehav Rev 19 : 39-51.

Bardo MT, Valone JM, Bevins RA (1999) Locomotion and conditioned place preference produced by acute intravenous amphetamine: role of dopamine receptors and individual differences in amphetamine self-administration. Psychopharmacology (Berl) 143 : 39-46.

Barik S, de Beaurepaire R (1996) Evidence for a functional role of the dopamine D_3 receptors in the cerebellum. Brain Res 737 : 347-350.

Barnes NM, Sharp T (1999) A review of central 5-HT receptors and their function. Neuropharmacology 38 : 1083-1152.

Barros DM, Izquierdo LA, Mello e Souza, Ardenghi PG, Pereira P, Medina JH, Izquierdo I (2000) Molecular signalling pathways in the cerebral cortex are required for retrieval of one-trial avoidance learning in rats. Behav Brain Res 114 : 183-192.

Barrot M, Olivier JD, Perrotti LI, DiLeone RJ, Berton O, Eisch AJ, Impey S, Storm DR, Neve RL, Yin JC, Zachariou V, Nestler EJ (2002) CREB activity in the nucleus accumbens shell controls gating of behavioral responses to emotional stimuli. Proc Natl Acad Sci U S A 99 : 11435-11440.

Baruch I, Hemsley DR, Gray JA (1988) Differential performance of acute and chronic schizophrenics in a latent inhibition task. J Nerv Ment Dis 176 : 598-606.

Baulac M, Verney C, Berger B (1986) Innervation dopaminergique des régions para-hippocampiques et hippocampiques du rat. Rev Neurol (Paris) 142 : 895-905.

Baxter MG, Holland PC, Gallagher M (1997) Disruption of decrements in conditioned stimulus processing by selective removal of hippocampal cholinergic input. J Neurosci 17 : 5230-5236.

Becker A, Grecksch G (1996) Illumination has no effect on rats' behavior in the elevated plus-maze. Physiol Behav 59 : 1175-1177.

Becker A, Peters B, Schroeder H, Mann T, Huether G, Grecksch G (2003) Ketamine-induced changes in rat behaviour : A possible animal model of schizophrenia. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 27 : 687-700.

Beckstead RM (1978) Afferent connections of the entorhinal area in the rat as demonstrated by retrograde cell-labeling with horseradish peroxidase. Brain Res 152 : 249-264.

Bernstein HG, Krell D, Baumann B, Danos P, Falkai P, Diekmann S, Henning H, Bogerts B (1998) Morphometric studies of the entorhinal cortex in neuropsychiatric patients and controls : clusters of heterotopically displaced lamina II neurons are not indicative of schizophrenia. Schizophr Res 33 : 125-132.

Berretta S, Robertson HA, Graybiel AM (1992) Dopamine and glutamate agonists stimulate neuron-specific expression of Fos-like protein in the striatum. J Neurophysiol 68 : 767-777.

Bertoglio LJ, Carobrez AP (2002) Behavioral profile of rats submitted to session 1-session 2 in the elevated plus-maze during diurnal/nocturnal phases and under different illumination conditions. Behav Brain Res 132 : 135-143.

Bespalov AY (1996) The expression of both amphetamine-conditioned place preference and pentylenetetrazol-conditioned place aversion is attenuated by the NMDA receptor antagonist (+/-)-CPP. Drug Alcohol Depend 41 : 85-88.

Betancur C, Lepee-Lorgeoux I, Cazillis M, Accili D, Fuchs S, Rostene W (2001) Neurotensin gene expression and behavioral responses following administration of psychostimulants and antipsychotic drugs in dopamine D(3) receptor deficient mice. Neuropsychopharmacology 24 : 170-182.

Binder EB, Gross RE, Nemeroff CB, Kilts CD (2002) Effects of neurotensin receptor antagonism on latent inhibition in Sprague-Dawley rats. Psychopharmacology (Berl) 161 : 288-295.

Bizon JL, Helm KA, Han JS, Chun HJ, Pucilowska J, Lund PK, Gallagher M (2001) Hypothalamic-pituitary-adrenal axis function and corticosterone receptor expression in behaviourally characterized young and aged Long-Evans rats. Eur J Neurosci 14 : 1739-1751.

Bjijou Y, De Deurwaerdere P, Spampinato U, Stinus L, Cador M (2002) D-amphetamine-induced behavioral sensitization : effect of lesioning dopaminergic terminals in the

medial prefrontal cortex, the amygdala and the entorhinal cortex. Neuroscience 109 : 499-516.

Bond N, Harland W (1975) Effect of amount of solution drunk on taste-aversion learning. Bull Psychon Soc 5 : 219-220.

Bordet R, Ridray S, Carboni S, Diaz J, Sokoloff P, Schwartz JC (1997) Induction of dopamine D_3 receptor expression as a mechanism of behavioral sensitization to levodopa. Proc Natl Acad Sci U S A 94 : 3363-3367.

Boulay D, Depoortere R, Rostene W, Perrault G, Sanger DJ (1999) Dopamine D_3 receptor agonists produce similar decreases in body temperature and locomotor activity in D_3 knock-out and wild-type mice. Neuropharmacology 38 : 555-565.

Bouthenet ML, Souil E, Martres MP, Sokoloff P, Giros B, Schwartz JC (1991) Localization of dopamine D_3 receptor mRNA in the rat brain using in situ hybridization histochemistry : comparison with dopamine D_2 receptor mRNA. Brain Res 564 : 203-219.

Bouton ME (1993) Context, time, and memory retrieval in the interference paradigms of Pavlovian learning. Psychol Bull 114 : 80-99.

Bristow LJ, Cook GP, Gay JC, Kulagowski JJ, Landon L, Murray F, Saywell KL, Young L, Hutson PH (1996) The behavioural and neurochemical profile of the putative dopamine D_3 receptor agonist, (+)-PD 128907, in the rat. Neuropharmacology 35 : 285-294.

Broersen LM, Feldon J, Weiner I (1999) Dissociative effects of apomorphine infusions into the medial prefrontal cortex of rats on latent inhibition, prepulse inhibition and amphetamine-induced locomotion. Neuroscience 94 : 39-46.

Broersen LM, Heinsbroek RP, de Bruin JP, Olivier B (1996) Effects of local application of dopaminergic drugs into the medial prefrontal cortex of rats on latent inhibition. Biol Psychiatry 40 : 1083-1090.

Brothers LA, Finch DM (1985) Physiological evidence for an excitatory pathway from entorhinal cortex to amygdala in the rat. Brain Res 359 : 10-20.

Browman KE, Badiani A, Robinson TE (1996) Fimbria-fornix lesions do not block sensitization to the psychomotor activating effects of amphetamine. Pharmacol Biochem Behav 53 : 899-902.

Browman KE, Badiani A, Robinson TE (1998) Modulatory effect of environmental stimuli on the susceptibility to amphetamine sensitization: a dose-effect study in rats. J Pharmacol Exp Ther 287 : 1007-1014.

Buchsbaum MS, Someya T, Teng CY, Abel L, Chin S, Najafi A, Haier RJ, Wu J, Bunney WE, Jr. (1996) PET and MRI of the thalamus in never-medicated patients with schizophrenia. Am J Psychiatry 153 : 191-199.

Buhusi CV, Gray JA, Schmajuk NA (1998) Perplexing effects of hippocampal lesions on latent inhibition : a neural network solution. Behav Neurosci 112 : 316-351.

Bunney BG, Bunney WE, Carlsson A (1995) Schizophrenia and glutamate. *In* Psychophamacology : *The Fourth Generation of Progress*, pp 1205-1214, Ed. F.E. Bloom et D.J. Kupfer. Raven Press, New York.

Burns LH, Annett L, Kelley AE, Everitt BJ, Robbins TW (1996) Effects of lesions to amygdala, ventral subiculum, medial prefrontal cortex, and nucleus accumbens on the reaction to novelty: implication for limbic-striatal interactions. Behav Neurosci 110 : 60-73.

Burwell RD, Amaral DG (1998a) Cortical afferents of the perirhinal, postrhinal, and entorhinal cortices of the rat. J Comp Neurol 398 : 179-205.

Burwell RD, Amaral DG (1998b) Perirhinal and postrhinal cortices of the rat: interconnectivity and connections with the entorhinal cortex. J Comp Neurol 391 : 293-321.

Bymaster FP, Calligaro DO, Falcone JF, Marsh RD, Moore NA, Tye NC, Seeman P, Wong DT (1996) Radioreceptor binding profile of the atypical antipsychotic olanzapine. Neuropsychopharmacology 14 : 87-96.

Bymaster FP, Rasmussen K, Calligaro DO, Nelson DL, Delapp NW, Wong DT, Moore NA (1997) In vitro and in vivo biochemistry of olanzapine : a novel, atypical antipsychotic drug. J Clin Psychiatry 58 Suppl 10 : 28-36.

-C-

Caballero-Bleda M, Witter MP (1993) Regional and laminar organization of projections from the presubiculum and parasubiculum to the entorhinal cortex : an anterograde tracing study in the rat. J Comp Neurol 328 : 115-129.

Cador M, Bjijou Y, Cailhol S, Stinus L (1999) D-amphetamine-induced behavioral sensitization: implication of a glutamatergic medial prefrontal cortex-ventral tegmental area innervation. Neuroscience 94 : 705-721.

Cador M, Dulluc J, Mormede P (1993) Modulation of the locomotor response to amphetamine by corticosterone. Neuroscience 56 : 981-988.

Caine SB, Humby T, Robbins TW, Everitt BJ (2001) Behavioral effects of psychomotor stimulants in rats with dorsal or ventral subiculum lesions : locomotion, cocaine self-administration, and prepulse inhibition of startle. Behav Neurosci 115: 880-894.

Calderazzo L, Cavalheiro EA, Macchi G, Molinari M, Bentivoglio M (1996) Branched connections to the septum and to the entorhinal cortex from the hippocampus, amygdala, and diencephalon in the rat. Brain Res Bull 40 : 245-251.

Calvo N, Martijena ID, Molina VA, Volosin M (1998) Metyrapone pretreatment prevents the behavioral and neurochemical sequelae induced by stress. Brain Res 800 : 227-235.

Campeau S, Watson SJ (1997) Neuroendocrine and behavioral responses and brain pattern of c-fos induction associated with audiogenic stress. J Neuroendocrinol 9 : 577-588.

Canales JJ, Iversen SD (2000) Psychomotor-activating effects mediated by dopamine D(2) and D(3) receptors in the nucleus accumbens. Pharmacol Biochem Behav 67 : 161-168.

Cardenas F, Lamprea MR, Morato S (2001) Vibrissal sense is not the main sensory modality in rat exploratory behavior in the elevated plus-maze. Behav Brain Res 122 : 169-174.

Carlsson A, Hansson LO, Waters N, Carlsson ML (1999) A glutamatergic deficiency model of schizophrenia. Br J Psychiatry 174 Suppl 37 : 2-6.

Carr GD, Phillips AG, Fibiger HC (1988) Independence of amphetamine reward from locomotor stimulation demonstrated by conditioned place preference. Psychopharmacology (Berl) 94 : 221-226.

Carr GD, White NM (1983) Conditioned place preference from intra-accumbens but not intra-caudate amphetamine injections. Life Sci 33 : 2551-2557.

Carr GD, White NM (1986) Anatomical disassociation of amphetamine's rewarding and aversive effects : an intracranial microinjection study. Psychopharmacology (Berl) 89 : 340-346.

Carta AR, Gerfen CR (1999) Lack of a role for the D_3 receptor in clozapine induction of c-fos demonstrated in D_3 dopamine receptor-deficient mice. Neuroscience 90 : 1021-1029.

Carta AR, Gerfen CR, Steiner H (2000) Cocaine effects on gene regulation in the striatum and behavior : increased sensitivity in D_3 dopamine receptor-deficient mice. Neuroreport 11 : 2395-2399.

Cassaday HJ, Hodges H, Gray JA (1993a) The effects of ritanserin, RU 24969 and 8-OH-DPAT on latent inhibition in the rat. J Psychopharmacol 7 : 63-71.

Cassaday HJ, Mitchell SN, Williams JH, Gray JA (1993b) 5,7-Dihydroxytryptamine lesions in the fornix-fimbria attenuate latent inhibition. Behav Neural Biol 59 : 194-207.

Chartoff EH, Ward RP, Dorsa DM (1999) Role of adenosine and N-methyl-D-aspartate receptors in mediating haloperidol-induced gene expression and catalepsy. J Pharmacol Exp Ther 291 : 531-537.

Chausmer A, Ettenberg A (1999) Intraaccumbens raclopride attenuates amphetamine-induced locomotion, but fails to prevent the response-reinstating properties of food reinforcement. Pharmacol Biochem Behav 62 : 299-305.

Chiba AA, Bucci DJ, Holland PC, Gallagher M (1995) Basal forebrain cholinergic lesions disrupt increments but not decrements in conditioned stimulus processing. J Neurosci 15 : 7315-7322.

Christison GW, Atwater GE, Dunn LA, Kilts CD (1988) Haloperidol enhancement of latent inhibition : relation to therapeutic action? Biol Psychiatry 23 : 746-749.

Church RM, Raymond GA, Beauchamp RD (1967) Response suppression as a function of intensity and duration of a punishment. J Comp Physiol Psychol 63 : 39-44.

Clifford JJ, Waddington JL (1998) Heterogeneity of behavioural profile between three new putative selective D_3 dopamine receptor antagonists using an ethologically based approach. Psychopharmacology (Berl) 136 : 284-290.

Coenen AM, Drinkenburg WH (2002) Animal models for information processing during sleep. Int J Psychophysiol 46 : 163-175.

Cohen BM, Cherkerzian S, Ma J, Ye N, Wager C, Lange N (2003) Cells in midline thalamus, central amygdala, and nucleus accumbens responding specifically to antipsychotic drugs. Psychopharmacology (Berl) 167 : 403-410.

Conner JM, Lauterborn JC, Yan Q, Gall CM, Varon S (1997) Distribution of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) protein and mRNA in the normal adult rat CNS: evidence for anterograde axonal transport. J Neurosci 17 : 2295-2313.

Costello NL, Carlson JN, Glick SD, Bryda M (1989) Dose-dependent and baseline-dependent conditioning with d-amphetamine in the place conditioning paradigm. Psychopharmacology (Berl) 99 : 244-247.

Coutureau E (199) Implication du cortex entorhinal dans l'inhibition latente chez le Rat. Thèse de doctorat, Université Louis Pasteur, Strasbourg I.

Coutureau E, Blundell PJ, Killcross S (2001) Basolateral amygdala lesions disrupt latent inhibitionin rats. Brain Res Bull 56 : 49-53.

Coutureau E, Galani R, Gosselin O, Majchrzak M, Di Scala G (1999) Entorhinal but not hippocampal or subicular lesions disrupt latent inhibition in rats. Neurobiol Learn Mem 72 : 143-157.

Coutureau E, Galani R, Jarrard LE, Cassel JC (2000a) Selective lesions of the entorhinal cortex, the hippocampus, or the fimbria-fornix in rats : a comparison of effects on spontaneous and amphetamine-induced locomotion. Exp Brain Res 131 : 381-392.

Coutureau E, Gosselin O, Di Scala G (2000b) Restoration of latent inhibition by olanzapine but not haloperidol in entorhinal cortex-lesioned rats. Psychopharmacology (Berl) 150 : 226-232.

Coutureau E, Lena I, Dauge V, Di SG (2002) The entorhinal cortex-nucleus accumbens pathway and latent inhibition : a behavioral and neurochemical study in rats. Behav Neurosci 116 : 95-104.

Creese I, Iversen SD (1972) Amphetamine response in rat after dopamine neurone destruction. Nat New Biol 238 : 247-248.

Crider AM, Scheideler MA (2001) Recent advances in the development of dopamine D(3) receptor agonists and antagonists. Mini Rev Med Chem 1 : 89-99.

Crowell CR, Anderson DC (1972) Variations in intensity, interstimulus interval, and interval between preconditioning CS exposures and conditioning with rats. J Comp Physiol Psychol 79 : 291-298.

Curran EJ, Watson SJ, Jr. (1995) Dopamine receptor mRNA expression patterns by opioid peptide cells in the nucleus accumbens of the rat : a double in situ hybridization study. J Comp Neurol 361 : 57-76.

-D-

Dall'Olio R, Gaggi R, Voltattorni M, Tanda O, Gandolfi O (2002) Nafadotride administration increases D_1 and D_1/D_2 dopamine receptor mediated behaviors. Behav Pharmacol 13 : 633-638.

Dall'olio R, Rimondini R, Gandolfi O (1997) Effects of competitive and non-competitive NMDA receptor antagonists on behavioral responses induced by 7-OH-DPAT and quinpirole in rats. Pharmacol Res 36 : 203-209.

Damadzic R, Bigelow LB, Krimer LS, Goldenson DA, Saunders RC, Kleinman JE, Herman MM (2001) A quantitative immunohistochemical study of astrocytes in the entorhinal cortex in schizophrenia, bipolar disorder and major depression : absence of significant astrocytosis. Brain Res Bull 55 : 611-618.

Darracq L, Blanc G, Glowinski J, Tassin JP (1998) Importance of the noradrenaline-dopamine coupling in the locomotor activating effects of D-amphetamine. J Neurosci 18 : 2729-2739.

De Boer P, Enrico P, Wright J, Wise LD, Timmerman W, Moor E, Dijkstra D, Wikstrom HV, Westerink BH (1997) Characterization of the effect of dopamine D_3 receptor stimulation on locomotion and striatal dopamine levels. Brain Res 758 : 83-91.

De Hert M, Ellenbroek B (2000) Animal models of schizophrenia. Neurosci Res Commun 26 : 279-288.

De la Casa LG, Diaz E, Lubow RE (2003) Effects of post-treatment retention interval and context on neophobia and conditioned taste aversion. Behav Processes 63 : 159-170.

De la Casa LG, Ruiz G, Lubow RE (1993) Amphetamine-produced attenuation of latent inhibition is modulated by stimulus preexposure duration : implications for schizophrenia. Biol Psychiatry 33 : 707-711.

De la Casa LG, Lubow RE (1995) Latent inhibition in conditioned taste aversion : the roles of stimulus frequency and duration and the amount of fluid ingested during preexposure. Neurobiol Learn Mem 64 : 125-132.

De Oliveira MP, Fouquet N, Oberling P, Gobaille S, Graeff FG, Sandner G (1999) A neurotoxic lesion of serotonergic neurones using 5,7-dihydroxytryptamine does not disrupt latent inhibition in paradigms sensitive to low doses of amphetamine. Behav Brain Res 100 : 167-175.

De Souza IE, Meredith GE (1999) NMDA receptor blockade attenuates the haloperidol induction of Fos protein in the dorsal but not the ventral striatum. Synapse 32 : 243-253.

Del Arco A, Gonzalez-Mora JL, Armas VR, Mora F (1999) Amphetamine increases the extracellular concentration of glutamate in striatum of the awake rat : involvement of high affinity transporter mechanisms. Neuropharmacology 38 : 943-954.

Deutch AY, Duman RS (1996) The effects of antipsychotic drugs on Fos protein expression in the prefrontal cortex : cellular localization and pharmacological characterization. Neuroscience 70 : 377-389.

DeVietti TL, Barrett OV (1986) Latent inhibition : no evidence of intertrial interval of the preexposure trials. Bull Psychon Soc 24 : 453-455.

Di Chiara G, Tanda G, Frau R, Carboni E (1993) On the preferential release of dopamine in the nucleus accumbens by amphetamine : further evidence obtained by vertically implanted concentric dialysis probes. Psychopharmacology (Berl) 112 : 398-402.

Di Scala G, Martin-Iverson MT, Phillips AG, Fibiger HC (1985) The effects of progabide (SL 76002) on locomotor activity and conditioned place preference induced by *d*-amphetamine. Eur J Pharmacol 107 : 271-274.

Diaz J, Levesque D, Lammers CH, Griffon N, Martres MP, Schwartz JC, Sokoloff P (1995) Phenotypical characterization of neurons expressing the dopamine D_3 receptor in the rat brain. Neuroscience 65 : 731-745.

Diaz J, Pilon C, Le Foll B, Gros C, Triller A, Schwartz JC, Sokoloff P (2000) Dopamine D_3 receptors expressed by all mesencephalic dopamine neurons. J Neurosci 20 : 8677-8684.

Diorio D, Viau V, Meaney MJ (1993) The role of the medial prefrontal cortex (cingulate gyrus) in the regulation of hypothalamic-pituitary-adrenal responses to stress. J Neurosci 13 : 3839-3847.

Dolorfo CL, Amaral DG (1998) Entorhinal cortex of the rat: topographic organization of the cells of origin of the perforant path projection to the dentate gyrus. J Comp Neurol 398 : 25-48.

Dougherty KD, Salat D, Walsh TJ (1996) Intraseptal injection of the cholinergic immunotoxin 192-IgG saporin fails to disrupt latent inhibition in a conditioned taste aversion paradigm. Brain Res 736 : 260-269.

Dragunow M, Robertson GS, Faull RL, Robertson HA, Jansen K (1990) D_2 dopamine receptor antagonists induce fos and related proteins in rat striatal neurons. Neuroscience 37 : 287-294.

Dunn LA, Scibilia RJ, Franks JA, Kilts CD (1991) Comparison of the effect on latent inhibition of dopamine agonists and atypical antipsychotics in rats. Soc Neurosci Abstr 17 : 99.

-E-

Eison MS, Ellison G, Eison AS (1981) The regional distribution of amphetamine in rat brain is altered by dosage and by prior exposure to the drug. J Pharmacol Exp Ther 218 : 237-241.

Ekman A, Nissbrandt H, Heilig M, Dijkstra D, Eriksson E (1998) Central administration of dopamine D_3 receptor antisense to rat: effects on locomotion, dopamine release and [3H]spiperone binding. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol 358 : 342-350.

Ellenbroek BA, Budde S, Cools AR (1996) Prepulse inhibition and latent inhibition : the role of dopamine in the medial prefrontal cortex. Neuroscience 75 : 535-542.

Ellenbroek BA, Cools AR (1990) Animal models with construct validity for schizophrenia. Behav Pharmacol 1 : 469-490.

Ellenbroek BA, Knobbout DA, Cools AR (1997) The role of mesolimbic and nigrostriatal dopamine in latent inhibition as measured with the conditioned taste aversion paradigm. Psychopharmacology (Berl) 129 : 112-120.

Emmert MH, Herman JP (1999) Differential forebrain c-fos mRNA induction by ether inhalation and novelty : evidence for distinctive stress pathways. Brain Res 845 : 60-67.

Escobar M, Arcediano F, Miller RR (2002a) Latent inhibition and contextual associations. J Exp Psychol Anim Behav Process 28 : 123-136.

Escobar M, Oberling P, Miller RR (2002b) Associative deficit accounts of disrupted latent inhibition and blocking in schizophrenia. Neurosci Biobehav Rev 26 : 203-216.

Exner M, Clark D (1993) Behaviour in the novel environment predicts responsiveness to *d*-amphetamine in the rat : a multivariate approach. Behav Pharmacol 4 : 47-56.

-F-

Falkai P, Bogerts B, Rozumek M (1988) Limbic pathology in schizophrenia : the entorhinal region-a morphometric study. Biol Psychiatry 24 : 515-521.

Falkai P, Honer WG, David S, Bogerts B, Majtenyi C, Bayer TA (1999) No evidence for astrogliosis in brains of schizophrenic patients. A post-mortem study. Neuropathol Appl Neurobiol 25 : 48-53 .

Falkai P, Schneider-Axmann T, Honer WG (2000) Entorhinal cortex pre-alpha cell clusters in schizophrenia: quantitative evidence of a developmental abnormality. Biol Psychiatry 47 : 937-943.

Fallon JH, Koziell DA, Moore RY (1978) Catecholamine innervation of the basal forebrain. II. Amygdala, suprarhinal cortex and entorhinal cortex. J Comp Neurol 180 : 509-532.

Fanselow MS, Bolles RC (1979) Naloxone and shock-elicited freezing in the rat. J Comp Physiol Psychol 93 : 736-744.

Fass B (1983) Temporal changes in open-field activity following progressive lesions of entorhinal cortex: evidence for enhanced recovery. Behav Neural Biol 37 : 108-124.

Feldon J, Shofel A, Weiner I (1991) Latent inhibition is unaffected by direct dopamine agonists. Pharmacol Biochem Behav 38 : 309-314.

Fendt M, Fanselow MS (1999) The neuroanatomical and neurochemical basis of conditioned fear. Neurosci Biobehav Rev 23 : 743-760.

Fenwick S, Mikulka PJ, Klein SB (1975) The effect of different levels of pre-exposure to sucrose on the acquisition and extinction of a conditioned aversion. Behav Biol 14 : 231-235.

Ferry B, Magistretti PJ, Pralong E (1997) Noradrenaline modulates glutamate-mediated neurotransmission in the rat basolateral amygdala in vitro. Eur J Neurosci 9 : 1356-1364.

Ferry B, Oberling P, Jarrard LE, Di Scala G (1996) Facilitation of conditioned odor aversion by entorhinal cortex lesions in the rat. Behav Neurosci 110 : 443-450.

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

Finch DM, Gigg J, Tan AM, Kosoyan OP (1995) Neurophysiology and neuropharmacology of projections from entorhinal cortex to striatum in the rat. Brain Res 670 : 233-247.

Fink-Jensen A (2000) Novel pharmacological approaches to the treatment of schizophrenia. Dan Med Bull 47 : 151-167.

Fink-Jensen A, Kristensen P (1994) Effects of typical and atypical neuroleptics on Fos protein expression in the rat forebrain. Neurosci Lett 182 : 115-118.

Flietstra RJ, Levant B (1998) Comparison of D_2 and D_3 dopamine receptor affinity of dopaminergic compounds in rat brain. Life Sci 62 : 1825-1831.

Flores G, Barbeau D, Quirion R, Srivastava LK (1996) Decreased binding of dopamine D_3 receptors in limbic subregions after neonatal bilateral lesion of rat hippocampus. J Neurosci 16 : 2020-2026.

-G-

Gaisler-Salomon I, Weiner I (2003) Systemic administration of MK-801 produces an abnormally persistent latent inhibition which is reversed by clozapine but not haloperidol. Psychopharmacology (Berl) 166 : 333-342.

Galani R, Duconseille E, Bildstein O, Cassel JC (2001) Effects of room and cage familiarity on locomotor activity measures in rats. Physiol Behav 74 : 1-4.

Galani R, Jarrard LE, Will BE, Kelche C (1997) Effects of postoperative housing conditions on functional recovery in rats with lesions of the hippocampus, subiculum, or entorhinal cortex. Neurobiol Learn Mem 67 : 43-56.

Galani R, Weiss I, Cassel JC, Kelche C (1998) Spatial memory, habituation, and reactions to spatial and nonspatial changes in rats with selective lesions of the hippocampus, the entorhinal cortex or the subiculum. Behav Brain Res 96 : 1-12.

Gallo M, Bielavska E, Roldan G, Bures J (1998) Tetrodotoxin inactivation of the gustatory cortex disrupts the effect of the N-methyl-D-aspartate antagonist ketamine on latent inhibition of conditioned taste aversion in rats. Neurosci Lett 240 : 61-64.

Gauthier M, Destrade C, Soumireu-Mourat B (1983) Functional dissociation between lateral and medial entorhinal cortex in memory processes in mice. Behav Brain Res 9 : 111-117.

Gauthier M, Soumireu-Mourat B (1981) Behavioral effects of bilateral entorhinal cortex lesions in the Balb/c mouse. Behav Neural Biol 33 : 419-436.

Gaykema RP, Luiten PG, Nyakas C, Traber J (1990) Cortical projection patterns of the medial septum-diagonal band complex. J Comp Neurol 293 : 103-124.

Gilbert DB, Cooper SJ (1995) 7-OH-DPAT injected into the accumbens reduces locomotion and sucrose ingestion : D_3 autoreceptor-mediated effects? Pharmacol Biochem Behav 52 : 275-280.

Gillen E, Briski KP (1997) Expression of Fos-like proteins in the preoptic area and hypothalamus of the rat brain following intracerebral or peripheral administration of colchicine. Neurochem Res 22 : 549-554.

Glasier MM, Sutton RL, Stein DG (1995) Effects of unilateral entorhinal cortex lesion and ganglioside GM1 treatment on performance in a novel water maze task. Neurobiol Learn Mem 64 : 203-214.

Gluck MA, Myers CE (2001) Entorhinal cortex. *In* Gateway to memory. An introduction to neural network modeling of the hippocampus and learning, pp 259-303. Ed. Bradford Book. MIT Press, Cambridge, Massachustts, London, England.

Gold LH, Geyer MA, Koob GF (1989) Neurochemical mechanisms involved in behavioral effects of amphetamines and related designer drugs. NIDA Res Monogr 94 : 101-126.

Good M, Honey RC (1997) Dissociable effects of selective lesions to hippocampal subsystems on exploratory behavior, contextual learning, and spatial learning. Behav Neurosci 111 : 487-493.

Goto K, Ueki A, Iso H, Morita Y (2002) Reduced prepulse inhibition in rats with entorhinal cortex lesions. Behav Brain Res 134 : 201-207.

Grace AA (1991) Phasic versus tonic dopamine release and the modulation of dopamine system responsivity: a hypothesis for the etiology of schizophrenia. Neuroscience 41 : 1-24.

Grace AA (1995) The tonic/phasic model of dopamine system regulation: its relevance for understanding how stimulant abuse can alter basal ganglia function. Drug Alcohol Depend 37 : 111-129.

Grace AA (2000) Gating of information flow within the limbic system and the pathophysiology of schizophrenia. Brain Res Brain Res Rev 31 : 330-341.

Gracey DJ, Bell R, King DJ (2000) PD-135,158, a cholecystokinin(B) antagonist, enhances latent inhibition in the rat. Pharmacol Biochem Behav 65 : 459-463.

Gracey DJ, Bell R, King DJ (2002) Differential effects of the CCK_A receptor ligands PD-140,548 and A-71623 on latent inhibition in the rat. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 26 : 497-504.

Gracia MR, Aguilar Garcia-Iturrospe EJ, Fernandez LL, Cejas Mendez MR, Herreros RO, Diaz RA, Hernandez MJ, Keshavan MS (1997) Hypofrontality in schizophrenia: influence of normalization methods. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 21 : 1239-1256.

Graeff FG, Guimaraes FS, De Andrade TG, Deakin JF (1996) Role of 5-HT in stress, anxiety, and depression. Pharmacol Biochem Behav 54 : 129-141.

Grahame NJ, Barnet RC, Gunther LM, Miller RR (1994) Latent inhibition as a performance deficit resulting from CS-context associations. Anim Learn Behav 22 : 395-408.

Gray JA, Feldon J, Rawlins JN, Hemsley DR, Smith AD (1991) The neuropsychology of schizophrenia. Behav Brain Sci 14 : 1-84.

Gray NS, Hemsley DR, Gray JA (1992a) Abolition of latent inhibition in acute, but not chronic, schizophrenics. Neurol Psychiatr Brain Res 1 : 83-89.

Gray NS, Pickering AD, Hemsley DR, Dawling S, Gray JA (1992b) Abolition of latent inhibition by a single 5 mg dose of *d*-amphetamine in man. Psychopharmacology (Berl) 107 : 425-430.

Gray NS, Pilowsky LS, Gray JA, Kerwin RW (1995) Latent inhibition in drug naive schizophrenics : relationship to duration of illness and dopamine D_2 binding using SPET. Schizophr Res 17 : 95-107.

Graybiel AM (1990) Neurotransmitters and neuromodulators in the basal ganglia. Trends Neurosci 13 : 244-254.

Griebel G, Moreau JL, Jenck F, Martin JR, Misslin R (1993) Some critical determinants of the behaviour of rats in the elevated plus-maze. Behav Processes 29 : 37-47.

Griffon N, Diaz J, Levesque D, Sautel F, Schwartz JC, Sokoloff P, Simon P, Costentin J, Garrido F, Mann A, Wermuth C (1995) Localization, regulation, and role of the dopmaine D_3 receptor are distinct fom those of the D_2 receptor. Clin Neuropharmacol 18 Suppl 1 : S130-S142.

Griffon N, Pilon C, Sautel F, Schwartz JC, Sokoloff P (1996a) Antipsychotics with inverse agonist activity at the dopamine D_3 receptor. J Neural Transm 103 : 1163-1175.

Griffon N, Pilon C, Sautel F, Schwartz JC, Sokoloff P (1997) Two intracellular signaling pathways for the dopamine D_3 receptor: opposite and synergistic interactions with cyclic AMP. J Neurochem 68 : 1-9.

Griffon N, Sautel F, Pilon C, Levesque D, Sokoloff P, Schwartz JC, Diaz J, Simon P, Costentin J, Mann A, Wermuth CG (1996b) Functional models for the dopamine D_3 receptor. Biochem Soc Trans 24 : 193-198.

Griffon N, Sokoloff P, Diaz J, Levesque D, Sautel F, Schwartz JC, Simon P, Costentin J, Garrido F, Mann A, (1995) The dopamine D_3 receptor and schizophrenia: pharmacological, anatomical and genetic approaches. Eur Neuropsychopharmacol 5 Suppl : 3-9.

Grilly DM, Loveland A (2001) What is a "low dose" of *d*-amphetamine for inducing behavioral effects in laboratory rats? Psychopharmacology (Berl) 153 : 155-169.

Guillin O, Diaz J, Carroll P, Griffon N, Schwartz JC, Sokoloff P (2001) BDNF controls dopamine D_3 receptor expression and triggers behavioural sensitization. Nature 411 : 86-89.

Guo N, Klitenick MA, Tham CS, Fibiger HC (1995) Receptor mechanisms mediating clozapine-induced c-fos expression in the forebrain. Neuroscience 65 : 747-756.

Guo N, Robertson GS, Fibiger HC (1992) Scopolamine attenuates haloperidol-induced c-fos expression in the striatum. Brain Res 588 : 164-167.

Guo N, Vincent SR, Fibiger HC (1998) Phenotypic characterization of neuroleptic-sensitive neurons in the forebrain : contrasting targets of haloperidol and clozapine. Neuropsychopharmacology 19 : 133-145.

Gur RE, Cowell PE, Latshaw A, Turetsky BI, Grossman RI, Arnold SE, Bilker WB, Gur RC (2000) Reduced dorsal and orbital prefrontal gray matter volumes in schizophrenia. Arch Gen Psychiatry 57 : 761-768.

-H-

Haas CA, Frotscher M, Deller T (1999) Differential induction of c-Fos, c-Jun and Jun B in the rat central nervous system following unilateral entorhinal cortex lesion. Neuroscience 90 : 41-51.

Hackling AE, Stark H (2002) Dopamine D_3 receptor ligands with antagonist properties. Chembiochem 3 : 946-961.

Hagan JJ, Verheijck EE, Spigt MH, Ruigt GS (1992) Behavioural and electrophysiological studies of entorhinal cortex lesions in the rat. Physiol Behav 51 : 255-266.

Hall G, Minor H (1984) A search for context-stimulus associations in latent inhibition. Q J Exp Psychol 36B : 145-169.

Hamid EH, Hyde TM, Egan MF, Wolf SS, Herman MM, Nemeroff CB, Kleinman JE (2002) Neurotensin receptor binding abnormalities in the entorhinal cortex in schizophrenia and affective disorders. Biol Psychiatry 51 : 795-800.

Hamm RJ, Lyeth BG (1984) Nociceptive thresholds following food restriction and return to free-feeding. Physiol Behav 33 : 499-501.

Han JS, Gallagher M, Holland P (1995) Hippocampal lesions disrupt decrements but not increments in conditioned stimulus processing. J Neurosci 15 : 7323-7329.

Harrison PJ (1999) The neuropathology of schizophrenia. A critical review of the data and their interpretation. Brain 122 : 593-624.

Heidbreder C, Feldon J (1998) Amphetamine-induced neurochemical and locomotor responses are expressed differentially across the anteroposterior axis of the core and shell subterritories of the nucleus accumbens. Synapse 29 : 310-322.

Heijtz RD, Ogren SO, Fuxe K (2000) Ontogeny of the motor inhibitory role of dopamine D(3) receptor subtype in rats. Eur J Pharmacol 392 : 35-39.

Hemby SE, Ginsberg SD, Brunk B, Arnold SE, Trojanowski JQ, Eberwine JH (2002) Gene expression profile for schizophrenia : discrete neuron transcription patterns in the entorhinal cortex. Arch Gen Psychiatry 59 : 631-640.

Herdegen T, Leah JD (1998) Inducible and constitutive transcription factors in the mammalian nervous system : control of gene expression by Jun, Fos and Krox, and CREB/ATF proteins. Brain Res Brain Res Rev 28 : 370-490.

Herman JP, Cullinan WE (1997) Neurocircuitry of stress : central control of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. Trends Neurosci 20 : 78-84.

Herman JP, Dolgas CM, Carlson SL (1998) Ventral subiculum regulates hypothalamo-pituitary-adrenocortical and behavioural responses to cognitive stressors. Neuroscience 86 : 449-459.

Herman JP, Prewitt CM, Cullinan WE (1996) Neuronal circuit regulation of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical stress axis. Crit Rev Neurobiol 10 : 371-394.

Herrera DG, Robertson HA (1996) Activation of c-fos in the brain. Prog Neurobiol 50 : 83-107.

Hiroi N, Graybiel AM (1996) Atypical and typical neuroleptic treatments induce distinct programs of transcription factor expression in the striatum. J Comp Neurol 374 : 70-83.

Hiroi N, Martin AB, Grande C, Alberti I, Rivera A, Moratalla R (2002) Molecular dissection of dopamine receptor signaling. J Chem Neuroanat 23 : 237-242.

Hiroi N, White NM (1991a) The amphetamine conditioned place preference : differential involvement of dopamine receptor subtypes and two dopaminergic terminal areas. Brain Res 552 : 141-152.

Hiroi N, White NM (1991b) The lateral nucleus of the amygdala mediates expression of the amphetamine-produced conditioned place preference. J Neurosci 11 : 2107-2116.

Hiroi N, White NM (1993) The ventral pallidum area is involved in the acquisition but not expression of the amphetamine conditioned place preference. Neurosci Lett 156 : 9-12.

Hisanaga K, Sagar SM, Sharp FR (1992) N-methyl-D-aspartate antagonists block fos-like protein expression induced via multiple signaling pathways in cultured cortical neurons. J Neurochem 58 : 1836-1844.

Hitchcock JM, Lister S, Fischer TR, Wettstein JG (1997) Disruption of latent inhibition in the rat by the 5-HT_2 agonist DOI : effects of MDL 100,907, clozapine, risperidone and haloperidol. Behav Brain Res 88 : 43-49.

Hoffman DC (1994) The noncompetitive NMDA antagonist MK-801 fails to block amphetamine-induced place conditioning in rats. Pharmacol Biochem Behav 47 : 907-912.

Hoffman DC, Beninger RJ (1988) Selective D_1 and D_2 dopamine agonists produce opposing effects in place conditioning but not in conditioned taste aversion learning. Pharmacol Biochem Behav 31 : 1-8.

Hogg S (1996) A review of the validity and variability of the elevated plus-maze as an animal model of anxiety. Pharmacol Biochem Behav 54 : 21-30.

Holland PC (1979) The effects of qualitative and quantitative variation in the US on individual components of Pavlovian appetitive conditioned behavior in rats. Anim Learn Behav 7 : 424-432.

Holland PC, Gallagher M (1993) Amygdala central nucleus lesions disrupt increments, but not decrements, in conditioned stimulus processing. Behav Neurosci 107 : 246-253.

Holt W, Maren S (1999) Muscimol inactivation of the dorsal hippocampus impairs contextual retrieval of fear memory. J Neurosci 19 : 9054-9062.

Honey RC, Good M (1993) Selective hippocampal lesions abolish the contextual specificity of latent inhibition and conditioning. Behav Neurosci 107 : 23-33.

Hooks MS, Kalivas PW (1995) The role of mesoaccumbens-pallidal circuitry in novelty-induced behavioral activation. Neuroscience 64 : 587-597.

Howell DC (1998) Méthodes statistiques en sciences humaines. De Boeck Université.

Hsu EH, Schroeder JP, Packard MG (2002) The amygdala mediates memory consolidation for an amphetamine conditioned place preference. Behav Brain Res 129 : 93-100.

Hurley MJ, Stubbs CM, Jenner P, Marsden CD (1996) Dopamine D_3 receptors are not involved in the induction of c-fos mRNA by neuroleptic drugs: comparison of the dopamine D_3 receptor antagonist GR103691 with typical and atypical neuroleptics. Eur J Pharmacol 318 : 283-293.

Hussain N, Flumerfelt BA, Rajakumar N (2001) Glutamatergic regulation of haloperidol-induced c-fos expression in the rat striatum and nucleus accumbens. Neuroscience 102 : 391-399.

Hussain N, Flumerfelt BA, Rajakumar N (2002) Muscarinic, adenosine A(2) and histamine H(3) receptor modulation of haloperidol-induced c-fos expression in the striatum and nucleus accumbens. Neuroscience 112 : 427-438.

-I-

Ikemoto S, Panksepp J (1999) The role of nucleus accumbens dopamine in motivated behavior : a unifying interpretation with special reference to reward-seeking. Brain Res Brain Res Rev 31 : 6-41.

Insausti R, Herrero MT, Witter MP (1997) Entorhinal cortex of the rat : cytoarchitectonic subdivisions and the origin and distribution of cortical efferents. Hippocampus 7 : 146-183.

Ishibashi T, Ikeda K, Ishida K, Yasui J, Tojima R, Nakamura M, Ohno Y (1996) Contrasting effects of SM-9018, a potential atypical antipsychotic, and haloperidol on c-fos mRNA expression in the rat striatum. Eur J Pharmacol 303 : 247-251.

Ishibashi T, Tagashira R, Nakamura M, Noguchi H, Ohno Y (1999) Effects of perospirone, a novel 5-HT_2 and D_2 receptor antagonist, on Fos protein expression in the rat forebrain. Pharmacol Biochem Behav 63 : 535-541.

Izquierdo I, McGaugh JL (2000) Behavioural pharmacology and its contribution to the molecular basis of memory consolidation. Behav Pharmacol 11 : 517-534.

Izquierdo I, Medina JH (1997) Memory formation : the sequence of biochemical events in the hippocampus and its connection to activity in other brain structures. Neurobiol Learn Mem 68 : 285-316.

Izquierdo I, Medina JH (1998) On brain lesions, the milkman and Sigmunda. Trends Neurosci 21 : 423-426.

Izquierdo I, Quillfeldt JA, Zanatta MS, Quevedo J, Schaeffer E, Schmitz PK, Medina JH (1997) Sequential role of hippocampus and amygdala, entorhinal cortex and parietal cortex in formation and retrieval of memory for inhibitory avoidance in rats. Eur J Neurosci 9 : 786-793.

-J-

Jackson DM, Westlind-Danielsson A (1994) Dopamine receptors: molecular biology, biochemistry and behavioural aspects. Pharmacol Ther 64 : 291-370.

Jakob A, Rochford J (1995) The effect of acute fluoxetine and buspirone administration on performance in a latent inhibition (LI) task. Soc Neurosci Abstr 21 : 1228.

Jakob H, Beckmann H (1986) Prenatal developmental disturbances in the limbic allocortex in schizophrenics. J Neural Transm 65 : 303-326.

Jeanblanc J, Hoeltzel A, Louilot A (2002) Dissociation in the involvement of dopaminergic neurons innervating the core and shell subregions of the nucleus accumbens in latent inhibition and affective perception. Neuroscience 111 : 315-323.

Jinks AL, McGregor IS (1997) Modulation of anxiety-related behaviours following lesions of the prelimbic or infralimbic cortex in the rat. Brain Res 772 : 181-190.

Joel D, Weiner I, Feldon J (1997) Electrolytic lesions of the medial prefrontal cortex in rats disrupt performance on an analog of the Wisconsin Card Sorting Test, but do not disrupt latent inhibition: implications for animal models of schizophrenia. Behav Brain Res 85 : 187-201.

Jones N, King SM (2001) Influence of circadian phase and test illumination on pre-clinical models of anxiety. Physiol Behav 72 : 99-106.

Jongen-Relo AL, Docter GJ, Jonker AJ, Vreugdenhil E, Groenewegen HJ, Voorn P (1994) Differential effects of dopamine depletion on the binding and mRNA levels of dopamine receptors in the shell and core of the rat nucleus accumbens. Brain Res Mol Brain Res 25 : 333-343.

Jongen-Relo AL, Kaufmann S, Feldon J (2002) A differential involvement of the shell and core subterritories of the nucleus accumbens of rats in attentional processes. Neuroscience 111 : 95-109.

Joseph MH, Peters SL, Gray JA (1993) Nicotine blocks latent inhibition in rats : evidence for a critical role of increased functional activity of dopamine in the mesolimbic system at conditioning rather than pre-exposure. Psychopharmacology (Berl) 110 : 187-192.

Joseph MH, Peters SL, Moran PM, Grigoryan GA, Young AM, Gray JA (2000) Modulation of latent inhibition in the rat by altered dopamine transmission in the nucleus accumbens at the time of conditioning. Neuroscience 101 : 921-930.

Joyal CC, Laakso MP, Tiihonen J, Syvalahti E, Vilkman H, Laakso A, Alakare B, Rakkolainen V, Salokangas RK, Hietala J (2002) A volumetric MRI study of the entorhinal cortex in first episode neuroleptic-naive schizophrenia. Biol Psychiatry 51 : 1005-1007.

Jung MY, Skryabin BV, Arai M, Abbondanzo S, Fu D, Brosius J, Robakis NK, Polites HG, Pintar JE, Schmauss C (1999) Potentiation of the D_2 mutant motor phenotype in mice lacking dopamine D_2 and D_3 receptors. Neuroscience 91 : 911-924.

-K-

Kawaguchi Y, Wilson CJ, Augood SJ, Emson PC (1995) Striatal interneurones: chemical, physiological and morphological characterization. Trends Neurosci 18 : 527-535.

Kaye H, Pearce JM (1987) Hippocampal lesions attenuate latent inhibition and the decline of the orienting response in rats. Q J Exp Psychol B 39 : 107-125.

Kelly PH, Seviour PW, Iversen SD (1975) Amphetamine and apomorphine responses in the rat following 6-OHDA lesions of the nucleus accumbens septi and corpus striatum. Brain Res 94 : 507-522.

Kemppainen S, Jolkkonen E, Pitkanen A (2002) Projections from the posterior cortical nucleus of the amygdala to the hippocampal formation and parahippocampal region in rat. Hippocampus 12 : 735-755.

Khan ZU, Gutierrez A, Martin R, Penafiel A, Rivera A, De La CA (1998) Differential regional and cellular distribution of dopamine D_2-like receptors: an immunocytochemical study of subtype-specific antibodies in rat and human brain. J Comp Neurol 402 : 353-371.

Khroyan TV, Baker DA, Fuchs RA, Manders N, Neisewander JL (1998) Differential effects of 7-OH-DPAT on amphetamine-induced stereotypy and conditioned place preference. Psychopharmacology (Berl) 139 : 332-341.

Khroyan TV, Fuchs RA, Baker DA, Neisewander JL (1997) Effects of D_3-preferring agonists 7-OH-PIPAT and PD-128,907 on motor behaviors and place conditioning. Behav Pharmacol 8 : 65-74.

Killcross AS, Dickinson A, Robbins TW (1994) Amphetamine-induced disruptions of latent inhibition are reinforcer mediated: implications for animal models of schizophrenic attentional dysfunction. Psychopharmacology (Berl) 115 : 185-195.

Killcross AS, Kiernan MJ, Dwyer D, Westbrook RF (1998) Effects of retention interval on latent inhibition and perceptual learning. Q J Exp Psychol B 51 : 59-74.

Killcross AS, Robbins TW (1993) Differential effects of intra-accumbens and systemic amphetamine on latent inhibition using an on-baseline, within-subject conditioned suppression paradigm. Psychopharmacology (Berl) 110 : 479-489.

Killcross AS, Stanhope KJ, Dourish CT, Piras G (1997) WAY100635 and latent inhibition in the rat: selective effects at preexposure. Behav Brain Res 88 : 51-57.

Kjelstrup KG, Tuvnes FA, Steffenach HA, Murison R, Moser EI, Moser MB (2002) Reduced fear expression after lesions of the ventral hippocampus. Proc Natl Acad Sci U S A 99 : 10825-10830.

Kling-Petersen T, Ljung E, Svensson K (1995) Effects on locomotor activity after local application of D_3 preferring compounds in discrete areas of the rat brain. J Neural Transm Gen Sect 102 : 209-220.

Koeltzow TE, Xu M, Cooper DC, Hu XT, Tonegawa S, Wolf ME, White FJ (1998) Alterations in dopamine release but not dopamine autoreceptor function in dopamine D_3 receptor mutant mice. J Neurosci 18 : 2231-2238.

Konstandi M, Kafetzopoulos E (1993) Effects of striatal or accumbens lesions on the amphetamine-induced abolition of latent inhibition. Pharmacol Biochem Behav 44 : 751-754.

Koob GF, Riley SJ, Smith SC, Robbins TW (1978) Effects of 6-hydroxydopamine lesions of the nucleus accumbens septi and olfactory tubercle on feeding, locomotor activity, and amphetamine anorexia in the rat. J Comp Physiol Psychol 92 : 917-927.

Kovacs KJ, Csejtei M, Laszlovszky I (2001) Double activity imaging reveals distinct cellular targets of haloperidol, clozapine and dopamine D(3) receptor selective RGH-1756. Neuropharmacology 40 : 383-393.

Krayniak PF, Meibach RC, Siegel A (1981) A projection from the entorhinal cortex to the nucleus accumbens in the rat. Brain Res 209 : 427-431.

Krimer LS, Herman MM, Saunders RC, Boyd JC, Hyde TM, Carter JM, Kleinman JE, Weinberger DR (1997) A qualitative and quantitative analysis of the entorhinal cortex in schizophrenia. Cereb Cortex 7 : 732-739.

Kuczenski R, Segal DS (1994) Neurochemistry of amphetamine. *In* Amphetamine and its analogs, pp 81-113. Ed. A.K. Cho et D.S. Segal. Academic Press, New York.

Kuczenski R, Segal DS (1999) Sensitization of amphetamine-induced stereotyped behaviors during the acute response. J Pharmacol Exp Ther 288 : 699-709.

Kurachi M, Sumiyoshi T, Shibata R, Sun YJ, Uehara T, Tanii Y, Suzuki M (2000) Changes in limbic dopamine metabolism following quinolic acid lesions of the left entorhinal cortex in rats. Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci 54 : 83-89.

Kurokawa K, Narita M, Koshiya K, Hidaka K, Ohmori J, Satoh K (1997) Effects of YM-43611, a novel dopamine D_2-like receptor antagonist, on immediate early gene expression in the rat forebrain. Neuropsychopharmacology 17 : 27-33.

-L-

Lacroix L, Broersen LM, Feldon J, Weiner I (2000a) Effects of local infusions of dopaminergic drugs into the medial prefrontal cortex of rats on latent inhibition, prepulse inhibition and amphetamine induced activity. Behav Brain Res 107 : 111-121.

Lacroix L, Broersen LM, Weiner I, Feldon J (1998) The effects of excitotoxic lesion of the medial prefrontal cortex on latent inhibition, prepulse inhibition, food hoarding, elevated plus maze, active avoidance and locomotor activity in the rat. Neuroscience 84 : 431-442.

Lacroix L, Spinelli S, Heidbreder CA, Feldon J (2000b) Differential role of the medial and lateral prefrontal cortices in fear and anxiety. Behav Neurosci 114 : 1119-1130.

Lahti RA, Cochrane EV, Roberts RC, Conley RR, Tamminga CA (1998) [3H]Neurotensin receptor densities in human postmortem brain tissue obtained from normal and schizophrenic persons. An autoradiographic study. J Neural Transm 105 : 507-516.

Lantz AE (1973) Effect of number of trials, interstimulus interval, and dishabituation during CS habituation on subsequent conditioning in a CER paradigm. Anim Learn Behav 1 : 273-277.

Lasher SS, Steward O (1981) The time course of changes in open field activity following bilateral entorhinal lesions in rats and cats. Behav Neural Biol 32 : 1-20.

Layer RT, Uretsky NJ, Wallace LJ (1993) Effects of the AMPA/kainate receptor antagonist DNQX in the nucleus accumbens on drug-induced conditioned place preference. Brain Res 617 : 267-273.

Le Moal M, Simon H (1991) Mesocorticolimbic dopaminergic network : functional and regulatory roles. Physiol Rev 71 : 155-234.

Le Moine C, Bloch B (1996) Expression of the D_3 dopamine receptor in peptidergic neurons of the nucleus accumbens : comparison with the D_1 and D_2 dopamine receptors. Neuroscience 73 : 131-143.

Le Moine C, Svenningsson P, Fredholm BB, Bloch B (1997) Dopamine-adenosine interactions in the striatum and the globus pallidus: inhibition of striatopallidal neurons through either D_2 or A_{2A} receptors enhances D_1 receptor-mediated effects on c-fos expression. J Neurosci 17 : 8038-8048.

Lee T, Kaneko T, Taki K, Mizuno N (1997) Preprodynorphin-, preproenkephalin-, and preprotachykinin-expressing neurons in the rat neostriatum : an analysis by immunocytochemistry and retrograde tracing. J Comp Neurol 386 : 229-244.

Legault M, Wise RA (2001) Novelty-evoked elevations of nucleus accumbens dopamine: dependence on impulse flow from the ventral subiculum and glutamatergic neurotransmission in the ventral tegmental area. Eur J Neurosci 13 : 819-828.

Leranth C, Carpi D, Buzsaki G, Kiss J (1999) The entorhino-septo-supramammillary nucleus connection in the rat : morphological basis of a feedback mechanism regulating hippocampal theta rhythm. Neuroscience 88 : 701-718.

Lett BT (1988) Enhancement of conditioned preference for a place paired with amphetamine produced by blocking the association between place and amphetamine-induced sickness. Psychopharmacology (Berl) 95 : 390-394.

Levant B, Cross RS, Pazdernik TL (1998) Alterations in local cerebral glucose utilization produced by D_3 dopamine receptor-selective doses of 7-OH-DPAT and nafadotride. Brain Res 812 : 193-199.

Levant B, Vansell NR (1997) In vivo occupancy of D_2 dopamine receptors by nafadotride. Neuropsychopharmacology 17 : 67-71.

Levesque D, Martres MP, Diaz J, Griffon N, Lammers CH, Sokoloff P, Schwartz JC (1995) A paradoxical regulation of the dopamine D_3 receptor expression suggests the involvement of an anterograde factor from dopamine neurons. Proc Natl Acad Sci U S A 92 : 1719-1723.

Levita L, Dalley JW, Robbins TW (2002) Nucleus accumbens dopamine and learned fear revisited : a review and some new findings. Behav Brain Res 137 : 115-127.

Liao RM, Chang YH, Wang SH, Lan CH (2000) Distinct accumbal subareas are involved in place conditioning of amphetamine and cocaine. Life Sci 67 : 2033-2043.

Lomber SG (1999) The advantages and limitations of permanent or reversible deactivation techniques in the assessment of neural function. J Neurosci Methods 86 : 109-117.

Longson D, Deakin JF, Benes FM (1996) Increased density of entorhinal glutamate-immunoreactive vertical fibers in schizophrenia. J Neural Transm 103 : 503-507.

Lorden JF, Rickert EJ, Berry DW (1983) Forebrain monoamines and associative learning : I. Latent inhibition and conditioned inhibition. Behav Brain Res 9 : 181-199.

Loskutova LV (2001) The effects of a serotoninergic substrate of the nucleus accumbens on latent inhibition. Neurosci Behav Physiol 31 : 15-20.

Loskutova LV, Luk'yanenko FY, Il'yuchenok RY (1990) Interaction of serotonin- and dopaminergic systems of the brain in mechanisms of latent inhibition in rats. Neurosci Behav Physiol 20 : 500-505.

Louilot A, Besson C (2000) Specificity of amygdalostriatal interactions in the involvement of mesencephalic dopaminergic neurons in affective perception. Neuroscience 96 : 73-82.

Louilot A, Choulli MK (1997) Asymmetrical increases in dopamine turn-over in the nucleus accumbens and lack of changes in locomotor responses following unilateral dopaminergic depletions in the entorhinal cortex. Brain Res 778 : 150-157.

Louilot A, Le Moal M (1994) Lateralized interdependence between limbicotemporal and ventrostriatal dopaminergic transmission. Neuroscience 59 : 495-500.

Lubow RE (1989) Latent inhibition and conditioned attention theory. Ed. R.E. Lubow. Cambridge University Press, Cambridge, UK.

Lubow RE, Gewirtz JC (1995) Latent inhibition in humans : data, theory, and implications for schizophrenia. Psychol Bull 117 : 87-103.

Lubow RE, Moore AU (1959) Latent inhibition : the effect of nonreinforced pre-exposure to the conditional stimulus. J Comp Physiol Psychol 52 : 415-419.

Lubow RE, Schnur P, Rifkin B (1976) Latent inhibition and Conditioned Attention theory. J.Exp.Psychol.Anim Behav.Process 2 : 163-174.

Lubow RE, Weiner I, Schlossberg A, Baruch I (1987) Latent inhibition and schizophrenia. Bull Psychon Soc 25 : 464-467.

Luck D, Di Scala G, Herbeaux K, Marchand A (2002) Involvement of the entorhinal cortex in contextual and elemental conditioning in rats. FENS, Paris, Juillet 13-17.

Luiten PG, Gaykema RP, Traber J, Spencer DG, Jr. (1987) Cortical projection patterns of magnocellular basal nucleus subdivisions as revealed by anterogradely transported Phaseolus vulgaris leucoagglutinin. Brain Res 413 : 229-250.

-M-

Ma J, Ye N, Lange N, Cohen BM (2003) Dynorphinergic GABA neurons are a target of both typical and atypical antipsychotic drugs in the nucleus accumbens shell, central amygdaloid nucleus and thalamic central medial nucleus. Neuroscience 121 : 991-998.

Mackintosh NJ (1975) A theory of attention : variations in the associability of stimuli with reinforcement. Psychol Rev 82 : 276-298.

Maj J, Rogoz Z, Skuza G (1999) The anticataleptic effect of 7-OH-DPAT : are dopamine D_3 receptors involved? J Neural Transm 106 : 1063-1073.

Majak K, Pitkanen A (2003) Activation of the amygdalo-entorhinal pathway in fear-conditioning in rat. Eur J Neurosci 18 : 1652-1659.

Majchrzak M, Di Scala G (2000) GABA and muscimol as reversible inactivation tools in learning and memory. Neural Plast 7 : 19-29.

Malpeli JG (1999) Reversible inactivation of subcortical sites by drug injection. J Neurosci Methods 86 : 119-128.

Mandel RJ, Hartgraves SL, Severson JA, Woodward JJ, Wilcox RE, Randall PK (1993) A quantitative estimate of the role of striatal D-2 receptor proliferation in dopaminergic behavioral supersensitivity: the contribution of mesolimbic dopamine to the magnitude of 6-OHDA lesion-induced agonist sensitivity in the rat. Behav Brain Res 59 : 53-64.

Manns ID, Mainville L, Jones BE (2001) Evidence for glutamate, in addition to acetylcholine and GABA, neurotransmitter synthesis in basal forebrain neurons projecting to the entorhinal cortex. Neuroscience 107 : 249-263.

Manoach DS (2003) Prefrontal cortex dysfunction during working memory performance in schizophrenia: reconciling discrepant findings. Schizophr Res 60 : 285-298.

Marchand AR, Luck D, Di Scala G (2003) Evaluation of an improved automated analysis of freezing behaviour in rats and its use in trace fear conditioning. J Neurosci Methods 126 : 145-153.

Marcus MM, Malmerfelt A, Nyberg S, Svensson TH (2002) Biochemical effects in brain of low doses of haloperidol are qualitatively similar to those of high doses. Eur Neuropsychopharmacol 12 : 379-386.

Maren S (2001) Neurobiology of Pavlovian fear conditioning. Annu Rev Neurosci 24 : 897-931.

Maren S, Fanselow MS (1995) Synaptic plasticity in the basolateral amygdala induced by hippocampal formation stimulation in vivo. J Neurosci 15 : 7548-7564.

Martinez G, Ropero C, Funes A, Flores E, Blotta C, Landa AI, Gargiulo PA (2002) Effects of selective NMDA and non-NMDA blockade in the nucleus accumbens on the plus-maze test. Physiol Behav 76 : 219-224.

McAllister KH (1997) A single administration of d-amphetamine prior to stimulus pre-exposure and conditioning attenuates latent inhibition. Psychopharmacology (Berl) 130 : 79-84.

McDonald AJ, Mascagni F (1997) Projections of the lateral entorhinal cortex to the amygdala: a Phaseolus vulgaris leucoagglutinin study in the rat. Neuroscience 77 : 445-459.

McFarland DJ, Kostas J, Drew WG (1978) Dorsal hippocampal lesions: effects of preconditioning CS exposure on flavor aversion. Behav Biol 22 : 398-404.

McGregor IS, Luscombe GM (1994) The role of the $5HT_2$ receptor in latent inhibition. Behav Pharmacol 5 : 120.

Menard J, Treit D (1996) Lateral and medial septal lesions reduce anxiety in the plus-maze and probe-burying tests. Physiol Behav 60 : 845-853.

Menard J, Treit D (1999) Effects of centrally administered anxiolytic compounds in animal models of anxiety. Neurosci Biobehav Rev 23 : 591-613.

Merchant KM, Figur LM, Evans DL (1996) Induction of c-fos mRNA in rat medial prefrontal cortex by antipsychotic drugs: role of dopamine D_2 and D_3 receptors. Cereb Cortex 6 : 561-570.

Meredith GE (1999) The synaptic framework for chemical signaling in nucleus accumbens. Ann N Y Acad Sci 877 : 140-156.

Mesulam MM, Mufson EJ, Wainer BH, Levey AI (1983) Central cholinergic pathways in the rat: an overview based on an alternative nomenclature (Ch1-Ch6). Neuroscience 10 : 1185-1201.

Meyer ME (1996) Mesolimbic 7-OH-DPAT affects locomotor activities in rats. Pharmacol Biochem Behav 55 : 209-214.

Miller JC (1990) Induction of c-fos mRNA expression in rat striatum by neuroleptic drugs. J Neurochem 54 : 1453-1455.

Miller RR, Matzel LD (1988) The comparator hypothesis : A response rule for the expression of associations. *In* The psychology of learning and motivation, pp 51-92. Ed. G.H. Bower. Academic Press, San Diego.

Missale C, Nash SR, Robinson SW, Jaber M, Caron MG (1998) Dopamine receptors : from structure to function. Physiol Rev 78 : 189-225.

Mittleman G, Bratt AM, Chase R (1998) Heterogeneity of the hippocampus : effects of subfield lesions on locomotion elicited by dopaminergic agonists. Behav Brain Res 92 : 31-45.

Mizukami K, Ishikawa M, Hidaka S, Iwakiri M, Sasaki M, Iritani S (2002) Immunohistochemical localization of $GABA_B$ receptor in the entorhinal cortex and inferior temporal cortex of schizophrenic brain. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 26 : 393-396.

Molodtsova GF (2003) Differences in serotonin and dopamine metabolism in the rat brain in latent inhibition. Neurosci Behav Physiol 33 : 217-222.

Moran PM, Moser PC (1992) MDL 73,147EF, a 5-HT_3 antagonist, facilitates latent inhibition in the rat. Pharmacol Biochem Behav 42 : 519-522.

Moran PM, Young AM, Gray JA, Joseph MH (1997) A single amphetamine treatments is able to disrupt latent inhibition in the rat by an action at conditioning alone. Br J Pharmacol (Proc.Suppl.) 120 : 139P.

Morgan MA, LeDoux JE (1995) Differential contribution of dorsal and ventral medial prefrontal cortex to the acquisition and extinction of conditioned fear in rats. Behav Neurosci 109 : 681-688.

Morgan MA, Romanski LM, LeDoux JE (1993) Extinction of emotional learning : contribution of medial prefrontal cortex. Neurosci Lett 163 : 109-113.

Moron I, Manrique T, Molero A, Ballesteros MA, Gallo M, Fenton A (2002) The contextual modulation of conditioned taste aversions by the physical environment and time of day is similar. Learn Mem 9 : 218-223.

Morris BJ, Newman-Tancredi A, Audinot V, Simpson CS, Millan MJ (2000) Activation of dopamine D(3) receptors induces c-fos expression in primary cultures of rat striatal neurons. J Neurosci Res 59 : 740-749.

Moser PC, Hitchcock JM, Lister S, Moran PM (2000) The pharmacology of latent inhibition as an animal model of schizophrenia. Brain Res Brain Res Rev 33 : 275-307.

Moser PC, Moran PM, Frank RA, Kehne JH (1996) Reversal of amphetamine-induced behaviours by MDL 100,907, a selective 5-HT_{2A} antagonist. Behav Brain Res 73 : 163-167.

Murphy CA, Pezze M, Feldon J, Heidbreder C (2000) Differential involvement of dopamine in the shell and core of the nucleus accumbens in the expression of latent inhibition to an aversively conditioned stimulus. Neuroscience 97 : 469-477.

Murray AM, Ryoo HL, Gurevich E, Joyce JN (1994) Localization of dopamine D_3 receptors to mesolimbic and D_2 receptors to mesostriatal regions of human forebrain. Proc Natl Acad Sci U S A 91 : 11271-11275.

-N-

Nachman M, Ashe JH (1973) Learned taste aversions in rats as a function of dosage, concentration, and route of administration of LiCl. Physiol Behav 10 : 73-78.

Nasrallah HA, Sharma S, Olson SC (1997) The volume of the entorhinal cortex in schizophrenia: a controlled MRI study. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 21 : 1317-1322.

Naumann T, Deller T, Bender R, Frotscher M (1997) 192 IgG-saporin-induced loss of cholinergic neurons in the septum abolishes cholinergic sprouting after unilateral entorhinal lesion in the rat. Eur J Neurosci 9 : 1304-1313.

Neigh GN, Arnold HM, Sarter M, Bruno JP (2001) Dissociations between the effects of intra-accumbens administration of amphetamine and exposure to a novel environment on accumbens dopamine and cortical acetylcholine release. Brain Res 894 : 354-358.

Nicolle MM, Barry CC, Veronesi B, Stanton ME (1989) Fornix transections disrupt the ontogeny of latent inhibition in the rat. Psychobiology 17 : 349-357.

-O-

O'Neill MF, Shaw G (1999) Comparison of dopamine receptor antagonists on hyperlocomotion induced by cocaine, amphetamine, MK-801 and the dopamine D_1 agonist C-APB in mice. Psychopharmacology (Berl) 145 : 237-250.

Ohashi K, Hamamura T, Lee Y, Fujiwara Y, Kuroda S (1998) Propranolol attenuates haloperidol-induced Fos expression in discrete regions of rat brain : possible brain regions responsible for akathisia. Brain Res 802 : 134-140.

Ohashi K, Hamamura T, Lee Y, Fujiwara Y, Suzuki H, Kuroda S (2000) Clozapine- and olanzapine-induced Fos expression in the rat medial prefrontal cortex is mediated by beta-adrenoceptors. Neuropsychopharmacology 23 : 162-169.

Olmstead MC, Franklin KB (1994) Lesions of the pedunculopontine tegmental nucleus block drug-induced reinforcement but not amphetamine-induced locomotion. Brain Res 638 : 29-35.

Oswald CJ, Yee BK, Rawlins JN, Bannerman DB, Good M, Honey RC (2002) The influence of selective lesions to components of the hippocampal system on the orienting response, habituation and latent inhibition. Eur J Neurosci 15 : 1983-1990.

Ouagazzal AM, Creese I (2000) Intra-accumbens infusion of D(3) receptor agonists reduces spontaneous and dopamine-induced locomotion. Pharmacol Biochem Behav 67 : 637-645.

-P-

Pacak K, Palkovits M (2001) Stressor specificity of central neuroendocrine responses : implications for stress-related disorders. Endocr Rev 22 : 502-548.

Paulson PE, Robinson TE (1994) Relationship between circadian changes in spontaneous motor activity and dorsal versus ventral striatal dopamine neurotransmission assessed with on-line microdialysis. Behav Neurosci 108 : 624-635.

Paxinos G, Watson C (1998) The rat brain in stereotaxic coordinates, Compact 4th edition. Academic Press, New York.

Pearce JM, Hall G (1980) A model for Pavlovian learning : variations in the effectiveness of conditioned but not of unconditioned stimuli. Psychol Rev 87 : 532-552.

Pereira P, Ardenghi P, Mello e Souza T, Medina JH, Izquierdo I (2001) Training in the step-down inhibitory avoidance task time-dependently increases cAMP-dependent protein kinase activity in the entorhinal cortex. Behav Pharmacol 12 : 217-220.

Peters SL, Joseph MH (1993) Haloperidol potentiation of latent inhibition in rats : evidence for a critical role at conditioning rather than pre-exposure. Behav Pharmacol 4 : 183-186.

Pezze MA, Heidbreder CA, Feldon J, Murphy CA (2001) Selective responding of nucleus accumbens core and shell dopamine to aversively conditioned contextual and discrete stimuli. Neuroscience 108 : 91-102.

Phillips RG, LeDoux JE (1995) Lesions of the fornix but not the entorhinal or perirhinal cortex interfere with contextual fear conditioning. J Neurosci 15 : 5308-5315.

Pierce RC, Kalivas PW (1997) A circuitry model of the expression of behavioral sensitization to amphetamine-like psychostimulants. Brain Res Brain Res Rev 25 : 192-216.

Pierri JN, Volk CL, Auh S, Sampson A, Lewis DA (2001) Decreased somal size of deep layer 3 pyramidal neurons in the prefrontal cortex of subjects with schizophrenia. Arch Gen Psychiatry 58 : 466-473.

Pikkarainen M, Ronkko S, Savander V, Insausti R, Pitkanen A (1999) Projections from the lateral, basal, and accessory basal nuclei of the amygdala to the hippocampal formation in rat. J Comp Neurol 403 : 229-260.

Pinna A, Morelli M (1999) Differential induction of Fos-like-immunoreactivity in the extended amygdala after haloperidol and clozapine. Neuropsychopharmacology 21 : 93-100.

Pinna A, Wardas J, Cozzolino A, Morelli M (1999) Involvement of adenosine A_{2A} receptors in the induction of c-fos expression by clozapine and haloperidol. Neuropsychopharmacology 20 : 44-51.

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

Ploghaus A, Narain C, Beckmann CF, Clare S, Bantick S, Wise R, Matthews PM, Rawlins JN, Tracey I (2001) Exacerbation of pain by anxiety is associated with activity in a hippocampal network. J Neurosci 21 : 9896-9903.

Plyusnina I, Oskina I (1997) Behavioral and adrenocortical responses to open-field test in rats selected for reduced aggressiveness toward humans. Physiol Behav 61 : 381-385.

Pollack AE, Bird JL, Lambert EB, Florin ZP, Castellar VL (1999) Role of NMDA glutamate receptors in regulating D_2 dopamine-dependent Fos induction in the rat striatopallidal pathway. Brain Res 818 : 543-547.

Pouzet B, Veenman CL, Yee BK, Feldon J, Weiner I (1999) The effects of radiofrequency lesion or transection of the fimbria-fornix on latent inhibition in the rat. Neuroscience 91 : 1355-1368.

Pouzet B, Zhang WN, Weiner I, Feldon J, Yee BK (2004) Latent inhibition is spared by n-methyl-d-aspartate (nmda)-induced ventral hippocampal lesions, but is attenuated following local activation of the ventral hippocampus by intracerebral nmda infusion. Neuroscience 124 : 183-194.

Prinssen EP, Koek W, Kleven MS (1998) Cocaine sensitization prevents the hypolocomotor effects of high but not low doses of PD 128,907. Eur J Pharmacol 355 : 19-22.

Pritchard LM, Logue AD, Hayes S, Welge JA, Xu M, Zhang J, Berger SP, Richtand NM (2003) 7-OH-DPAT and PD 128907 selectively activate the D_3 dopamine receptor in a novel environment. Neuropsychopharmacology 28 : 100-107.

Pugsley TA, Davis MD, Akunne HC, MacKenzie RG, Shih YH, Damsma G, Wikstrom H, Whetzel SZ, Georgic LM, Cooke LW (1995) Neurochemical and functional characterization of the preferentially selective dopamine D_3 agonist PD 128907. J Pharmacol Exp Ther 275 : 1355-1366.

Purves D, Bonardi C, Hall G (1995) Enhancement of latent inhibition in rats with electrolytic lesions of the hippocampus. Behav Neurosci 109 : 366-370.

-Q-

Quirarte GL, Galvez R, Roozendaal B, McGaugh JL (1998) Norepinephrine release in the amygdala in response to footshock and opioid peptidergic drugs. Brain Res 808 : 134-140.

-R-

Rascle C, Mazas O, Vaiva G, Tournant M, Raybois O, Goudemand M, Thomas P (2001) Clinical features of latent inhibition in schizophrenia. Schizophr Res 51 : 149-161.

Reavill C, Taylor SG, Wood MD, Ashmeade T, Austin NE, Avenell KY, Boyfield I, Branch CL, Cilia J, Coldwell MC, Hadley MS, Hunter AJ, Jeffrey P, Jewitt F, Johnson CN, Jones DN, Medhurst AD, Middlemiss DN, Nash DJ, Riley GJ, Routledge C, Stemp G, Thewlis KM, Trail B, Vong AK, Hagan JJ (2000) Pharmacological actions of a novel, high-affinity, and selective human dopamine D(3) receptor antagonist, SB-277011-A. J Pharmacol Exp Ther 294 : 1154-1165.

Rebec GV, Christensen JR, Guerra C, Bardo MT (1997a) Regional and temporal differences in real-time dopamine efflux in the nucleus accumbens during free-choice novelty. Brain Res 776 : 61-67.

Rebec GV, Grabner CP, Johnson M, Pierce RC, Bardo MT (1997b) Transient increases in catecholaminergic activity in medial prefrontal cortex and nucleus accumbens shell during novelty. Neuroscience 76 : 707-714.

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

Reiss S, Wagner AR (1972) CS habituation produces a "latent inhibition effect" but no active "conditioned inhbition". Learn Motiv 3 : 237-245.

Rex A, Thomas H, Hortnagl H, Voits M, Fink H (2003) Behavioural and microdialysis study after neurotoxic lesion of the dorsal raphe nucleus in rats. Pharmacol Biochem Behav 74 : 587-593.

Richtand NM, Goldsmith RJ, Nolan JE, Berger SP (2001a) The D_3 dopamine receptor and substance dependence. J Addict Dis 20 : 19-32.

Richtand NM, Logue AD, Welge JA, Perdiue J, Tubbs LJ, Spitzer RH, Sethuraman G, Geracioti TD (2000) The dopamine D_3 receptor antagonist nafadotride inhibits development of locomotor sensitization to amphetamine. Brain Res 867 : 239-242.

Richtand NM, Woods SC, Berger SP, Strakowski SM (2001b) D_3 dopamine receptor, behavioral sensitization, and psychosis. Neurosci Biobehav Rev 25 : 427-443.

Ridray S, Griffon N, Mignon V, Souil E, Carboni S, Diaz J, Schwartz JC, Sokoloff P (1998) Coexpression of dopamine D_1 and D_3 receptors in islands of Calleja and shell of nucleus accumbens of the rat : opposite and synergistic functional interactions. Eur J Neurosci 10 : 1676-1686.

Riegert C, Galani R, Heilig S, Lazarus C, Cosquer B, Cassel J-C (sous presse) Electrolytic lesions of the ventral subiculum weakly alter spatial memory but potentiate amphetamine-induced locomotion. Behav Brain Res.

Rieux C, Carney R, Lupi D, Dkhissi-Benyahya O, Jansen K, Chounlamountri N, Foster RG, Cooper HM (2002) Analysis of immunohistochemical label of Fos protein in the suprachiasmatic nucleus : comparison of different methods of quantification. J Biol Rhythms 17 : 121-136.

Robertson GS, Fibiger HC (1992) Neuroleptics increase c-fos expression in the forebrain : contrasting effects of haloperidol and clozapine. Neuroscience 46 : 315-328.

Robertson GS, Fibiger HC (1996) Effects of olanzapine on regional C-Fos expression in rat forebrain. Neuropsychopharmacology 14 : 105-110.

Robertson GS, Jian M (1995) D_1 and D_2 dopamine receptors differentially increase Fos-like immunoreactivity in accumbal projections to the ventral pallidum and midbrain. Neuroscience 64 : 1019-1034.

Robertson GS, Matsumura H, Fibiger HC (1994) Induction patterns of Fos-like immunoreactivity in the forebrain as predictors of atypical antipsychotic activity. J Pharmacol Exp Ther 271 : 1058-1066.

Robertson GS, Vincent SR, Fibiger HC (1992) D_1 and D_2 dopamine receptors differentially regulate c-fos expression in striatonigral and striatopallidal neurons. Neuroscience 49 : 285-296.

Robinet PM, Bardo MT (2001) Dopamine D_3 receptors are involved in amphetamine-induced contralateral rotation in 6-OHDA lesioned rats. Pharmacol Biochem Behav 70 : 43-54.

Robinson TE, Browman KE, Crombag HS, Badiani A (1998) Modulation of the induction or expression of psychostimulant sensitization by the circumstances surrounding drug administration. Neurosci Biobehav Rev 22 : 347-354.

Rochford J, Sen AP, Quirion R (1996a) Effect of nicotine and nicotinic receptor agonists on latent inhibition in the rat. J Pharmacol Exp Ther 277 : 1267-1275.

Rochford J, Sen AP, Rousse I, Welner SA (1996b) The effect of quisqualic acid-induced lesions of the nucleus basalis magnocellularis on latent inhibition. Brain Res Bull 41 : 313-317.

Rodriguez G, Alonso G (2002) Latent inhibition as a function of CS intensity in taste aversion learning. Behavioural Processes 60 : 61-67.

Roe DL, Bardgett ME, Csernansky CA, Csernansky JG (1998) Induction of Fos protein by antipsychotic drugs in rat brain following kainic acid-induced limbic-cortical neuronal loss. Psychopharmacology (Berl) 138 : 151-158.

Roesler R, Roozendaal B, McGaugh JL (2002) Basolateral amygdala lesions block the memory-enhancing effect of 8-Br-cAMP infused into the entorhinal cortex of rats after training. Eur J Neurosci 15 : 905-910.

Rogue P, Vincendon G (1992) Dopamine D_2 receptor antagonists induce immediate early genes in the rat striatum. Brain Res Bull 29 : 469-472.

Roozendaal B (2000) 1999 Curt P. Richter award. Glucocorticoids and the regulation of memory consolidation. Psychoneuroendocrinology 25 : 213-238.

Roozendaal B (2002) Stress and memory : opposing effects of glucocorticoids on memory consolidation and memory retrieval. Neurobiol Learn Mem 78 : 578-595.

Rosas JM, Bouton ME (1997) Additivity of the effects of retention interval and context change on latent inhibition: toward resolution of the context forgetting paradox. J Exp Psychol Anim Behav Process 23 : 283-294.

Ruob C, Weiner I, Feldon J (1998) Haloperidol-induced potentiation of latent inhibition: interaction with parameters of conditioning. Behav Pharmacol 9 : 245-253.

-S-

Sacchetti B, Ambroqi LC, Baldi E, Tassoni G, Bucherelli C (1999) Memorization of contextual and CS conditioned fear response (freezing) in a one-trial acquisition paradigm. Arch Ital Biol 137 : 235-248.

Saigusa T, Takada K, Baker SC, Kumar R, Stephenson JD (1997) Dopamine efflux in the rat nucleus accumbens evoked by dopamine receptor stimulation in the entorhinal cortex is modulated by oestradiol and progesterone. Synapse 25 : 37-43.

Saigusa T, Tuinstra T, Koshikawa N, Cools AR (1999) High and low responders to novelty: effects of a catecholamine synthesis inhibitor on novelty-induced changes in behaviour and release of accumbal dopamine. Neuroscience 88 : 1153-1163.

Salgado JV, Hetem LA, Vidal M, Graeff FG, Danion JM, Sandner G (2000) Reduction of latent inhibition by D-amphetamine in a conditioned suppression paradigm in humans. Behav Brain Res 117 : 61-67.

Saper CB (1984) Organization of cerebral cortical afferent systems in the rat. II. Magnocellular basal nucleus. J Comp Neurol 222 : 313-342.

Saulskaya N, Marsden CA (1995) Conditioned dopamine release : dependence upon N-methyl-D-aspartate receptors. Neuroscience 67 : 57-63.

Sautel F, Griffon N, Levesque D, Pilon C, Schwartz JC, Sokoloff P (1995a) A functional test identifies dopamine agonists selective for D_3 versus D_2 receptors. Neuroreport 6 : 329-332.

Sautel F, Griffon N, Sokoloff P, Schwartz JC, Launay C, Simon P, Costentin J, Schoenfelder A, Garrido F, Mann A (1995b) Nafadotride, a potent preferential dopamine D_3 receptor antagonist, activates locomotion in rodents. J Pharmacol Exp Ther 275 : 1239-1246.

Scharfman HE, Witter MP, Schwarcz R (2000) The parahippocampal region. Implications for neurological and psychiatric diseases. Introduction. Ann N Y Acad Sci 911 : ix-xiii.

Schaub CL, Schmelzeis MC, Mittleman G (1997) The effects of limbic lesions on locomotion and stereotypy elicited by dopamine agonists in the rat. Behav Brain Res 84 : 129-143.

Schauz C, Koch M (1999) Lesions of the nucleus basalis magnocellularis do not impair prepulse inhibition and latent inhibition of fear-potentiated startle in the rat. Brain Res 815 : 98-105.

Schauz C, Koch M (2000) Blockade of NMDA receptors in the amygdala prevents latent inhibition of fear-conditioning. Learn Mem 7 : 393-399.

Scheideler MA, Martin J, Hohlweg R, Rasmussen JS, Naerum L, Ludvigsen TS, Larsen PJ, Korsgaard N, Crider AM, Ghosh D, Cruse SF, Fink-Jensen A (1997) The preferential dopamine D_3 receptor agonist cis-8-OH-PBZI induces limbic Fos expression in rat brain. Eur J Pharmacol 339 : 261-270.

Schildein S, Agmo A, Huston JP, Schwarting RK (1998) Intraaccumbens injections of substance P, morphine and amphetamine : effects on conditioned place preference and behavioral activity. Brain Res 790 : 185-194.

Schmajuk NA, Cox L, Gray JA (2001) Nucleus accumbens, entorhinal cortex and latent inhibition: a neural network model. Behav Brain Res 118 : 123-141.

Schmajuk NA, Gray JA, Lam YW (1996) Latent inhibition : a neural network approach. J Exp Psychol Anim Behav Process 22 : 321-349.

Schnur P, Lubow RE (1976) Latent inhibition : the effects of ITI and CS intensity during preexposure. Learn Motiv 7 : 540-550.

Schroeder U, Schroeder H, Darius J, Grecksch G, Sabel BA (1998) Simulation of psychosis by continuous delivery of phencyclidine from controlled-release polymer implants. Behav Brain Res 97 : 59-68.

Schuller JJ, Marshall JF (2000) Acute immediate-early gene response to 6-hydroxydopamine infusions into the medial forebrain bundle. Neuroscience 96 : 51-58.

Schwartz J, Diaz J, Pilon C, Sokoloff P (2000) Possible implications of the dopamine D(3) receptor in schizophrenia and in antipsychotic drug actions. Brain Res Brain Res Rev 31 : 277-287.

Schwartz JC, Diaz J, Bordet R, Griffon N, Perachon S, Pilon C, Ridray S, Sokoloff P (1998) Functional implications of multiple dopamine receptor subtypes: the D_1/D_3 receptor coexistence. Brain Res Brain Res Rev 26 : 236-242.

Schwartz JC, Griffon N, Diaz J, Levesque D, Sautel F, Sokoloff P, Simon P, Costentin J, Garrido F, Mann A, (1995) The D_3 receptor and its relevance in psychiatry. Int Clin Psychopharmacol 10 Suppl 3 : 15-20.

Sebens JB, Koch T, Korf J (1996) Lack of cross-tolerance between haloperidol and clozapine towards Fos-protein induction in rat forebrain regions. Eur J Pharmacol 315 : 269-275.

Sebens JB, Koch T, Ter Horst GJ, Korf J (1995) Differential Fos-protein induction in rat forebrain regions after acute and long-term haloperidol and clozapine treatment. Eur J Pharmacol 273 : 175-182.

Sebens JB, Koch T, Ter Horst GJ, Korf J (1998) Olanzapine-induced Fos expression in the rat forebrain; cross-tolerance with haloperidol and clozapine. Eur J Pharmacol 353 : 13-21.

Sellings LH, Clarke PB (2003) Segregation of amphetamine reward and locomotor stimulation between nucleus accumbens medial shell and core. J Neurosci 23 : 6295-6303.

Semba J, Sakai MW, Suhara T, Akanuma N (1999) Differential effects of acute and chronic treatment with typical and atypical neuroleptics on c-fos mRNA expression in rat forebrain regions using non-radioactive in situ hybridization. Neurochem Int 34 : 269-277.

Setlow B, Roozendaal B, McGaugh JL (2000) Involvement of a basolateral amygdala complex-nucleus accumbens pathway in glucocorticoid-induced modulation of memory consolidation. Eur J Neurosci 12 : 367-375.

Sewards TV, Sewards MA (2003) Input and output stations of the entorhinal cortex: superficial vs. deep layers or lateral vs. medial divisions? Brain Res Brain Res Rev 42 : 243-251.

Shadach E, Gaisler I, Schiller D, Weiner I (2000) The latent inhibition model dissociates between clozapine, haloperidol, and ritanserin. Neuropsychopharmacology 23 : 151-161.

Shafer RA, Levant B (1997) Fos protein expression is induced by nafadotride, a dopamine D_3 receptor-prefering antagonist. Soc Neurosci Abstr 23 : 682.

Shafer RA, Levant B (1998) The D_3 dopamine receptor in cellular and organismal function. Psychopharmacology (Berl) 135 : 1-16.

Shah AA, Treit D (2003) Excitotoxic lesions of the medial prefrontal cortex attenuate fear responses in the elevated-plus maze, social interaction and shock probe burying tests. Brain Res 969 : 183-194.

Shalev U, Feldon J, Weiner I (1998) Latent inhibition is disrupted by acute and repeated administration of corticosterone. Int J Neuropsychopharmcol 1 : 103-113.

Sharp T, Zetterstrom T, Ljungberg T, Ungerstedt U (1987) A direct comparison of amphetamine-induced behaviours and regional brain dopamine release in the rat using intracerebral dialysis. Brain Res 401 : 322-330.

Sheng M, Greenberg ME (1990) The regulation and function of c-fos and other immediate early genes in the nervous system. Neuron 4 : 477-485.

Shohamy D, Allen MT, Gluck MA (2000) Dissociating entorhinal and hippocampal involvement in latent inhibition. Behav Neurosci 114 : 867-874.

Shors TJ (2001) Acute stress rapidly and persistently enhances memory formation in the male rat. Neurobiol Learn Mem 75 : 10-29.

Shors TJ, Weiss C, Thompson RF (1992) Stress-induced facilitation of classical conditioning. Science 257 : 537-539.

Siegel S (1969) Generalization of latent inhibition. J Comp Physiol Psychol 69 : 157-159.

Sigala S, Missale C, Spano P (1997) Opposite effects of dopamine D_2 and D_3 receptors on learning and memory in the rat. Eur J Pharmacol 336 : 107-112.

Silveira MC, Sandner G, Graeff FG (1993) Induction of Fos immunoreactivity in the brain by exposure to the elevated plus-maze. Behav Brain Res 56 : 115-118.

Solanto MV (1998) Neuropsychopharmacological mechanisms of stimulant drug action in attention-deficit hyperactivity disorder : a review and integration. Behav Brain Res 94 : 127-152.

Solomon PR, Kiney CA, Scott DR (1978) Disruption of latent inhibition following systemic administration of parachlorophenylalanine (PCPA). Physiol Behav 20 : 265-271.

Solomon PR, Nichols GL, Kiernan JM, III, Kamer RS, Kaplan LJ (1980) Differential effects of lesions in medial and dorsal raphe of the rat : latent inhibition and septohippocampal serotonin levels. J Comp Physiol Psychol 94 : 145-154.

Solomon PR, Staton DM (1982) Differential effects of microinjections of d-amphetamine into the nucleus accumbens or the caudate putamen on the rat's ability to ignore an irrelevant stimulus. Biol Psychiatry 17 : 743-756.

Sotty F, Sandner G, Gosselin O (1996) Latent inhibition in conditioned emotional response : c-fos immunolabelling evidence for brain areas involved in the rat. Brain Res 737 : 243-254.

Spyraki C, Fibiger HC, Phillips AG (1982) Dopaminergic substrates of amphetamine-induced place preference conditioning. Brain Res 253 : 185-193.

Stanhope KJ, Dourish CT (1996) Effects of 5-HT_{1A} receptor agonists, partial agonists and a silent antagonist on the performance of the conditioned emotional response test in the rat. Psychopharmacology (Berl) 128 : 293-303.

Stanwood GD, Lucki I, McGonigle P (2000) Differential regulation of dopamine D_2 and D_3 receptors by chronic drug treatments. J Pharmacol Exp Ther 295 : 1232-1240.

Staton DM, Solomon PR (1984) Microinjections of d-amphetamine into the nucleus accumbens and caudate-putamen differentially affect stereotypy and locomotion in the rat. Physiol Psychology 12 : 159-162.

Steiner H, Gerfen CR (1998) Role of dynorphin and enkephalin in the regulation of striatal output pathways and behavior. Exp Brain Res 123 : 60-76.

Stevenson CW, Gratton A (2003) Basolateral amygdala modulation of the nucleus accumbens dopamine response to stress : role of the medial prefrontal cortex. Eur J Neurosci 17 : 1287-1295.

Stevenson CW, Sullivan RM, Gratton A (2003) Effects of basolateral amygdala dopamine depletion on the nucleus accumbens and medial prefrontal cortical dopamine responses to stress. Neuroscience 116 : 285-293.

Steward O, Loesche J, Horton WC (1977) Behavioral correlates of denervation and reinnervation of the hippocampal formation of the rat : open field activity and cue utilization following bilateral entorhinal cortex lesions. Brain Res Bull 2 : 41-48.

Sun YJ, Suzuki M, Kurachi T, Murata M, Kurachi M (1998) Expression of Fos protein in the limbic regions of the rat following haloperidol decanoate. Brain Res 791 : 125-136.

Surmeier DJ, Song WJ, Yan Z (1996) Coordinated expression of dopamine receptors in neostriatal medium spiny neurons. J Neurosci 16 : 6579-6591.

Suzuki M, Sun YJ, Murata M, Kurachi M (1998) Widespread expression of Fos protein induced by acute haloperidol administration in the rat brain. Psychiatry Clin Neurosci 52 : 353-359.

Svenningsson P, Fourreau L, Bloch B, Fredholm BB, Gonon F, Le Moine C (1999) Opposite tonic modulation of dopamine and adenosine on c-fos gene expression in striatopallidal neurons. Neuroscience 89 : 827-837.

Svensson K, Carlsson A, Waters N (1994) Locomotor inhibition by the D_3 ligand R-(+)-7-OH-DPAT is independent of changes in dopamine release. J Neural Transm Gen Sect 95 : 71-74.

Swanson CJ, Heath S, Stratford TR, Kelley AE (1997) Differential behavioral responses to dopaminergic stimulation of nucleus accumbens subregions in the rat. Pharmacol Biochem Behav 58 : 933-945.

Swanson LW (1982) The projections of the ventral tegmental area and adjacent regions: a combined fluorescent retrograde tracer and immunofluorescence study in the rat. Brain Res Bull 9 : 321-353.

Swanson LW, Kohler C (1986) Anatomical evidence for direct projections from the entorhinal area to the entire cortical mantle in the rat. J Neurosci 6 : 3010-3023.

Swerdlow NR, Braff DL, Hartston H, Perry W, Geyer MA (1996) Latent inhibition in schizophrenia. Schizophr Res 20 : 91-103.

Swerdlow NR, Halim N, Hanlon FM, Platten A, Auerbach PP (2001) Lesion size and amphetamine hyperlocomotion after neonatal ventral hippocampal lesions: more is less. Brain Res Bull 55 : 71-77.

-T-

Tai CT, Cassaday HJ, Feldon J, Rawlins JN (1995) Both electrolytic and excitotoxic lesions of nucleus accumbens disrupt latent inhibition of learning in rats. Neurobiol Learn Mem 64 : 36-48.

Tamminga C (1999) Glutamatergic aspects of schizophrenia. Br J Psychiatry 174 Suppl 37 : 12-15.

Tandon R (1999) Cholinergic aspects of schizophrenia. Br J Psychiatry 174 Suppl 37 : 7-11.

Thiriet N, Humblot N, Burgun C, Aunis D, Zwiller J (1998) Cocaine and fluoxetine induce the expression of the hVH-5 gene encoding a MAP kinase phosphatase. Brain Res Mol Brain Res 62 : 150-157.

Thorn L, Ashmeade TE, Storey VJ, Routledge C, Reavill C (1997) Evidence to suggest that agonist modulation of hyperlocomotion is via post-synaptic dopamine D_2 or D_3 receptors. Neuropharmacology 36 : 787-792.

Thornton JC, Dawe S, Lee C, Capstick C, Corr PJ, Cotter P, Frangou S, Gray NS, Russell MA, Gray JA (1996) Effects of nicotine and amphetamine on latent inhibition in human subjects. Psychopharmacology (Berl) 127 : 164-173.

Todd CL, Grace AA (1999) Modulation of ventral tegmental area dopamine cell activity by the ventral subiculum and entorhinal cortex. Ann N Y Acad Sci 877 : 688-690.

Tokuyama W, Hashimoto T, Li YX, Okuno H, Miyashita Y (1998) Highest trkB mRNA expression in the entorhinal cortex among hippocampal subregions in the adult rat : contrasting pattern with BDNF mRNA expression. Brain Res Mol Brain Res 62 : 206-215.

Totterdell S, Meredith GE (1997) Topographical organization of projections from the entorhinal cortex to the striatum of the rat. Neuroscience 78 : 715-729.

Treit D, Robinson A, Rotzinger S, Pesold C (1993) Anxiolytic effects of serotonergic interventions in the shock-probe burying test and the elevated plus-maze test. Behav Brain Res 54 : 23-34.

Tremblay M, Rouillard C, Levesque D (1998a) The antisense strategy applied to the study of dopamine D_3 receptor functions in rat forebrain. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 22 : 857-882.

Tremblay M, Rouillard C, Levesque D (1999) Dopamine D_3 receptor antisense administration reduces basal c-fos and NGFI-B mRNA levels in the rat forebrain. Synapse 32 : 51-57.

Tremblay PO, Gervais J, Rouillard C (1998b) Modification of haloperidol-induced pattern of c-fos expression by serotonin agonists. Eur J Neurosci 10 : 3546-3555.

Trimble KM, Bell R, King DJ (2002) Effects of the selective dopamine D(1) antagonists NNC 01-0112 and SCH 39166 on latent inhibition in the rat. Physiol Behav 77 : 115-123.

Turenne SD, Miles C, Parker LA, Siegel S (1996) Individual differences in reactivity to the rewarding/aversive properties of drugs : assessment by taste and place conditioning. Pharmacol Biochem Behav 53 : 511-516.

Turgeon SM, Auerbach EA, Duncan-Smith MK, George JR, Graves WW (2000) The delayed effects of DTG and MK-801 on latent inhibition in a conditioned taste-aversion paradigm. Pharmacol Biochem Behav 66 : 533-539.

Turgeon SM, Auerbach EA, Heller MA (1998) The delayed effects of phencyclidine (PCP) disrupt latent inhibition in a conditioned taste aversion paradigm. Pharmacol Biochem Behav 60 : 553-558.

Turgeon SM, Kegel G, Davis MM (2001) Electrolytic lesions of the medial septum enhance latent inhibition in a conditioned taste aversion paradigm. Brain Res 890 : 333-337.

Turgeon SM, Reichstein DA (2002) Decreased striatal c-Fos accompanies latent inhibition in a conditioned taste aversion paradigm. Brain Res 924 : 120-123.

Turgeon SM, Roche JK (1999) The delayed effects of phencyclidine enhance amphetamine-induced behavior and striatal C-Fos expression in the rat. Neuroscience 91 : 1265-1275.

Tuvnes FA, Steffenach HA, Murison R, Moser MB, Moser EI (2003) Selective hippocampal lesions do not increase adrenocortical activity. J Neurosci 23 : 4345-4354.

Tzschentke TM (1998) Measuring reward with the conditioned place preference paradigm : a comprehensive review of drug effects, recent progress and new issues. Prog Neurobiol 56 : 613-672.

Tzschentke TM, Schmidt WJ (1997) Interactions of MK-801 and GYKI 52466 with morphine and amphetamine in place preference conditioning and behavioural sensitization. Behav Brain Res 84 : 99-107.

Tzschentke TM, Schmidt WJ (1998) Blockade of morphine- and amphetamine-induced conditioned place preference in the rat by riluzole. Neurosci Lett 242 : 114-116.

Tzschentke TM, Schmidt WJ (2000) Functional relationship among medial prefrontal cortex, nucleus accumbens, and ventral tegmental area in locomotion and reward. Crit Rev Neurobiol 14 : 131-142.

-U-

Uehara T, Sumiyoshi T, Itoh H, Kurachi M (2003) Modulation of stress-induced dopamine release by excitotoxic damage of the entorhinal cortex in the rat. Brain Res 989 : 112-116.

Uehara T, Sumiyoshi T, Itoh H, Kurachi M (2004) Inhibition of dopamine synthesis with alpha-methyl-p-tyrosine abolishes the enhancement of methamphetamine-induced extracellular dopamine levels in the amygdala of rats with excitotoxic lesions of the entorhinal cortex. Neurosci Lett 356 : 21-24.

Uehara T, Tanii Y, Sumiyoshi T, Kurachi M (2000) Neonatal lesions of the left entorhinal cortex affect dopamine metabolism in the rat brain. Brain Res 860 : 77-86.

Ueki A, Miwa C, Miyoshi K (1994) Impairment in the acquisition of passive and active avoidance learning tasks due to bilateral entorhinal cortex lesions. J Neurol Sci 125 : 14-21.

Umegaki H, Zhu W, Nakamura A, Suzuki Y, Takada M, Endo H, Iguchi A (2003) Involvement of the entorhinal cortex in the stress response to immobilization, but not to insulin-induced hypoglycaemia. J Neuroendocrinol 15 : 237-241.

Uslaner J, Badiani A, Norton CS, Day HE, Watson SJ, Akil H, Robinson TE (2001) Amphetamine and cocaine induce different patterns of c-fos mRNA expression in the striatum and subthalamic nucleus depending on environmental context. Eur J Neurosci 13 : 1977-1983.

-V-

Vahid-Ansari F, Robertson GS (1996) 7-OH-DPAT differentially reverses clozapine- and haloperidol-induced increases in Fos-like immunoreactivity in the rodent forebrain. Eur J Neurosci 8 : 2605-2611.

Vaitl D, Lipp O, Bauer U, Schuler G, Stark R, Zimmermann M, Kirsch P (2002) Latent inhibition and schizophrenia : Pavlovian conditioning of autonomic responses. Schizophr Res 55 : 147-158.

Van Groen T, Wyss JM (1990) The connections of presubiculum and parasubiculum in the rat. Brain Res 518 : 227-243.

Vanderschuren LJ, Kalivas PW (2000) Alterations in dopaminergic and glutamatergic transmission in the induction and expression of behavioral sensitization : a critical review of preclinical studies. Psychopharmacology (Berl) 151 : 99-120.

Vanderschuren LJ, Schmidt ED, De Vries TJ, Van Moorsel CA, Tilders FJ, Schoffelmeer AN (1999) A single exposure to amphetamine is sufficient to induce long-term behavioral, neuroendocrine, and neurochemical sensitization in rats. J Neurosci 19 : 9579-9586.

Veinante P, Stoeckel ME, Freund-Mercier MJ (1997) GABA- and peptide-immunoreactivities co-localize in the rat central extended amygdala. Neuroreport 8 : 2985-2989.

Ventura R, Cabib S, Alcaro A, Orsini C, Puglisi-Allegra S (2003) Norepinephrine in the prefrontal cortex is critical for amphetamine-induced reward and mesoaccumbens dopamine release. J Neurosci 23 : 1879-1885.

-W-

Wagner AR (1981) SOP: A model of automatic memory processing in animal behavior. *In* Information processing in animals : memory mechanisms, pp 5-47. Ed. N.E. Spear et R.R. Miller. Lawrence Erlbaum, Hillsdale, NJ.

Wall PM, Messier C (2001) Methodological and conceptual issues in the use of the elevated plus-maze as a psychological measurement instrument of animal anxiety-like behavior. Neurosci Biobehav Rev 25 : 275-286.

Warburton EE, Mitchell SS, Joseph MM (1996) Calcium dependence of sensitised dopamine release in rat nucleus accumbens following amphetamine challenge : implications for the disruption of latent inhibition. Behav Pharmacol 7 : 119-129.

Waters N, Svensson K, Haadsma-Svensson SR, Smith MW, Carlsson A (1993) The dopamine D_3-receptor : a postsynaptic receptor inhibitory on rat locomotor activity. J Neural Transm Gen Sect 94 : 11-19.

Weiner I (1990) Neural substrates of latent inhibition : the switching model. Psychol Bull 108 : 442-461.

Weiner I (2003) The "two-headed" latent inhibition model of schizophrenia : modeling positive and negative symptoms and their treatment. Psychopharmacology (Berl) 169 : 257-297.

Weiner I, Bernasconi E, Broersen LM, Feldon J (1997a) Amphetamine-induced disruption of latent inhibition depends on the nature of the stimulus. Behav Pharmacol 8 : 442-457.

Weiner I, Feldon J (1992) Phencyclidine does not disrupt latent inhibition in rats : implications for animal models of schizophrenia. Pharmacol Biochem Behav 42 : 625-631.

Weiner I, Feldon J (1997) The switching model of latent inhibition : an update of neural substrates. Behav Brain Res 88 : 11-25.

Weiner I, Feldon J, Tarrasch R, Hairston I, Joel D (1998) Fimbria-fornix cut affects spontaneous activity, two-way avoidance and delayed non matching to sample, but not latent inhibition. Behav Brain Res 96 : 59-70.

Weiner I, Gal G, Feldon J (1999) Disrupted and undisruptable latent inhibition following shell and core lesions. Ann N Y Acad Sci 877 : 723-727.

Weiner I, Gal G, Rawlins JN, Feldon J (1996) Differential involvement of the shell and core subterritories of the nucleus accumbens in latent inhibition and amphetamine-induced activity. Behav Brain Res 81 : 123-133.

Weiner I, Izraeli-Telerant A, Feldon J (1987) Latent inhibition is not affected by acute or chronic administration of 6 mg/kg dl-amphetamine. Psychopharmacology (Berl) 91 : 345-351.

Weiner I, Kidron R, Tarrasch R, Arnt J, Feldon J (1994) The effects of the new antipsychotic, sertindole, on latent inhibition in rats. Behav Pharmacol 5 : 119-124.

Weiner I, Lubow RE, Feldon J (1988) Disruption of latent inhibition by acute administration of low doses of amphetamine. Pharmacol Biochem Behav 30 : 871-878.

Weiner I, Shadach E, Barkai R, Feldon J (1997b) Haloperidol- and clozapine-induced enhancement of latent inhibition with extended conditioning : implications for the mechanism of action of neuroleptic drugs. Neuropsychopharmacology 16 : 42-50.

Weiner I, Tarrasch R, Bernasconi E, Broersen LM, Ruttimann TC, Feldon J (1997c) Amphetamine-induced disruption of latent inhibition is not reinforcer-mediated. Pharmacol Biochem Behav 56 : 817-826.

Weiner I, Tarrasch R, Feldon J (1995) Basolateral amygdala lesions do not disrupt latent inhibition. Behav Brain Res 72 : 73-81.

Weiss KR, Friedman R, McGregor S (1974) Effects of septal lesions on latent inhibition and habituation of the orienting response in rats. Acta Neurobiol Exp (Wars) 34 : 491-504.

Westbrook RF, Bond NW, Feyer AM (1981) Short- and long-term decrements in toxicosis-induced odor-aversion learning : the role of duration of exposure to an odor. J Exp Psychol Anim Behav Process 7 : 362-381.

Westbrook RF, Jones ML, Bailey GK, Harris JA (2000) Contextual control over conditioned responding in a latent inhibition paradigm. J Exp Psychol Anim Behav Process 26 : 157-173.

Wilkinson LS, Humby T, Killcross AS, Torres EM, Everitt BJ, Robbins TW (1998) Dissociations in dopamine release in medial prefrontal cortex and ventral striatum during the acquisition and extinction of classical aversive conditioning in the rat. Eur J Neurosci 10 : 1019-1026.

Wilkinson LS, Mittleman G, Torres E, Humby T, Hall FS, Robbins TW (1993) Enhancement of amphetamine-induced locomotor activity and dopamine release in nucleus accumbens following excitotoxic lesions of the hippocampus. Behav Brain Res 55 : 143-150.

Williams JH, Wellman NA, Geaney DP, Cowen PJ, Feldon J, Rawlins JN (1998) Reduced latent inhibition in people with schizophrenia : an effect of psychosis or of its treatment. Br J Psychiatry 172 : 243-249.

Witter MP, Naber PA, van Haeften T, Machielsen WC, Rombouts SA, Barkhof F, Scheltens P, Lopes da Silva FH (2000a) Cortico-hippocampal communication by way of parallel parahippocampal-subicular pathways. Hippocampus 10 : 398-410.

Witter MP, Wouterlood FG, Naber PA, van Haeften T (2000b) Anatomical organization of the parahippocampal-hippocampal network. Ann N Y Acad Sci 911 : 1-24.

Wolf ME (1998) The role of excitatory amino acids in behavioral sensitization to psychomotor stimulants. Prog Neurobiol 54 : 679-720.

Wolf ME, Dahlin SL, Hu XT, Xue CJ, White K (1995) Effects of lesions of prefrontal cortex, amygdala, or fornix on behavioral sensitization to amphetamine : comparison with N-methyl-D-aspartate antagonists. Neuroscience 69 : 417-439.

Wolterink G, Van Zanten E, Kamsteeg H, Radhakishun FS, van Ree JM (1990) Functional recovery after destruction of dopamine systems in the nucleus accumbens of rats. I. Behavioral and biochemical studies. Brain Res 507 : 92-100.

Wyss JM (1981) An autoradiographic study of the efferent connections of the entorhinal cortex in the rat. J Comp Neurol 199 : 495-512.

-X-

Xu M, Koeltzow TE, Cooper DC, Tonegawa S, White FJ (1999) Dopamine D_3 receptor mutant and wild-type mice exhibit identical responses to putative D_3 receptor-selective agonists and antagonists. Synapse 31 : 210-215.

Xu M, Koeltzow TE, Santiago GT, Moratalla R, Cooper DC, Hu XT, White NM, Graybiel AM, White FJ, Tonegawa S (1997) Dopamine D_3 receptor mutant mice exhibit increased behavioral sensitivity to concurrent stimulation of D_1 and D_2 receptors. Neuron 19 : 837-848.

-Y-

Yamamoto J, Fresquet N, Sandner G (2002) Conditioned taste aversion using four different means to deliver sucrose to rats. Physiol Behav 75 : 387-396.

Yee BK, Feldon J, Rawlins JN (1995a) Latent inhibition in rats is abolished by NMDA-induced neuronal loss in the retrohippocampal region, but this lesion effect can be prevented by systemic haloperidol treatment. Behav Neurosci 109 : 227-240.

Yee BK, Feldon J, Rawlins JN (1995b) Potentiation of amphetamine-induced locomotor activity following NMDA-induced retrohippocampal neuronal loss in the rat. Exp Brain Res 106 : 356-364.

Yee BK, Feldon J, Rawlins JN (1997) Cytotoxic lesions of the retrohippocampal region attenuate latent inhibition but spare the partial reinforcement extinction effect. Exp Brain Res 115 : 247-256.

Young AM, Ahier RG, Upton RL, Joseph MH, Gray JA (1998) Increased extracellular dopamine in the nucleus accumbens of the rat during associative learning of neutral stimuli. Neuroscience 83 : 1175-1183.

Young AM, Joseph MH, Gray JA (1993) Latent inhibition of conditioned dopamine release in rat nucleus accumbens. Neuroscience 54 : 5-9.

Young AM, Rees KR (1998) Dopamine release in the amygdaloid complex of the rat, studied by brain microdialysis. Neurosci Lett 249 : 49-52.

-Z-

Zahm DS (2000) An integrative neuroanatomical perspective on some subcortical substrates of adaptive responding with emphasis on the nucleus accumbens. Neurosci Biobehav Rev 24 : 85-105.

Zapata A, Witkin JM, Shippenberg TS (2001) Selective D_3 receptor agonist effects of (+)-PD 128907 on dialysate dopamine at low doses. Neuropharmacology 41 : 351-359.

Zhang W, Bymaster FP (1999) The in vivo effects of olanzapine and other antipsychotic agents on receptor occupancy and antagonism of dopamine D_1, D_2, D_3, $5HT_{2A}$ and muscarinic receptors. Psychopharmacology (Berl) 141 : 267-278.

Ziolkowska B, Hollt V (1993) The NMDA receptor antagonist MK-801 markedly reduces the induction of c- fos gene by haloperidol in the mouse striatum. Neurosci Lett 156 : 39-42.

Zorawski M, Killcross S (2002) Posttraining glucocorticoid receptor agonist enhances memory in appetitive and aversive Pavlovian discrete-cue conditioning paradigms. Neurobiol Learn Mem 78 : 458-464.

ANNEXES

Coloration au violet de Crésyl

¤ **Solution de Crésyl**

-5g de Crésyl violet acétate (Sigma C1791)

- 600 ml d'eau
- 60 ml d'acétate 1M
- 340 ml d'acide acétique 1M

¤ **Mélange alcool/acide (décolorant)**

10 ml d'acide acétique concentré dans 200 ml d'éthanol à 95%

¤ **Protocole**

Les lames sont passées dans différents bains:

- eau distillée (2 min)
- solution de Crésyl (16 min, 55°C)
- eau distillée (3 bains de 1 min)
- éthanol à 70% (2 min)
- éthanol à 95% (2 min)
- mélange alcool/acide (20 secondes)
- éthanol 95% (3 min)
- éthanol 100% (2 bains de 3 min)

Les lames sont ensuite placées pendant 5 min dans du LMR sol, puis couvertes de lamelles en utilisant un liquide de montage (Eukitt). Les lames sont finalement séchées à l'air.

Révélation de l'acétylcholinestérase

¤ **Solution mère**

- 0,844 g de $CuSO_4,5H_2O$
- 0,811 g de glycine
- 3,12 g d'acétate de sodium
- 1 litre d'eau, pH ajusté à 5 à l'aide d'acide concentré

¤ **Solution de sulfure de sodium**

2 g de Na_2S dans 200 ml d'eau, pH ajusté à 7,5 avec de l'acide chlorhydrique concentré

¤ **Solution d'incubation**

200 ml de solution mère
230 mg d'acéthylthiocholine iodide
20 mg d'éthopropazine

¤ **Protocole**

Les lames sont passées dans différents bains:

- eau distillée (2 bains de 2 min)
- solution d'incubation (15 à 18 h, 37°C)
- eau distillée (3 bains de 2 min)
- solution Na2S (75 secondes)
- eau distillée (3 bains de 2 min)
- éthanol 70% (4 min)
- éthanol 95% (4 min)
- éthanol 100% (4 min)

Les lames sont ensuite placées pendant 5 min dans du LMR sol, puis couvertes de lamelles en utilisant un liquide de montage (Eukitt). Les lames sont finalement séchées à l'air.

Hybridation *in situ*

a. solutions utilisées

¤ solution d'hybridation:

formamide 50%; Dextran sulfate 10%; Denhardt 10X; NaCl 0,3 M;
Tris-HCL pH 8, 10 mM; EDTA 2 mM; Tampon phosphate pH 8, 10 mM;
ARNt 50µg/ml

¤ PBS 10X, pH 7,4

NaCl 1,55M; NaH_2PO_4 25mM; $Na_2HPO_4,2H_2O$ 130mM

¤ NTE 10X, pH 8

NaCl 100mM; Tris-HCl 10mM; EDTA 1mM

¤ SSC 20X, pH 7,1 (saline sodium citrate)

NaCl 3M; $Na_3C_6H_5O_7,2H_2O$ 0,3M

¤ Denhardt 100X

Polyvinyl pinolidone 2%; Ficoll 2%; Serum-albumine 2%

b milieu de transcription

- 4µl de tampon de transcription 5X
- 2µl de DTT 100mM
- 1µl de chacun des nucléotides suivants (10mM): ATP, CTP, GTP
- 3µl d'UTP 100µM
- 3µl d'UTP $\alpha[^{35}S]$ d'activité spécifique 1000 Ci/mmol
- 1µl de vecteur linéarisé (plasmide + insert)
- 0,5 µl de RNA polymérase SP6
- eau ultra-pure stérile qsp 20 µl

c calcul du temps d'incubation pour l'hydrolyse de la ribosonde

$$t = (Lo-Lt)/(Lo \times Lt \times 0,11)$$

avec: Lo : Longueur du fragment d'ADN transcrit (1Kb)

Lt : Longueur du fragment voulu (environ 300pb)