



**HAL**  
open science

# Mécanismes neurobiologiques et comportementaux impliqués dans l'expression de la peur récente et ancienne à un contexte chez le rat

Marc-Antoine Muller

► **To cite this version:**

Marc-Antoine Muller. Mécanismes neurobiologiques et comportementaux impliqués dans l'expression de la peur récente et ancienne à un contexte chez le rat. Neurosciences [q-bio.NC]. Université de Strasbourg, 2012. Français. NNT : 2012STRAJ131 . tel-00881141

**HAL Id: tel-00881141**

**<https://theses.hal.science/tel-00881141>**

Submitted on 7 Nov 2013

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

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



**UNIVERSITÉ DE STRASBOURG**



**ÉCOLE DOCTORALE DES SCIENCES DE LA VIE ET DE LA SANTÉ**

**Laboratoire d'Imagerie et de Neurosciences Cognitives**

**UMR 7191 Uds / CNRS**

**THÈSE** présentée par :

**Marc-Antoine MULLER**

soutenue le : 17 / 10 / 2012

pour obtenir le grade de : **Docteur de l'université de Strasbourg**

Discipline/ Spécialité : Neurosciences

**MÉCANISMES NEUROBIOLOGIQUES ET  
COMPORTEMENTAUX IMPLIQUÉS DANS  
L'EXPRESSION DE LA PEUR RECENTE ET  
ANCIENNE A UN CONTEXTE CHEZ LE RAT**

**THÈSE dirigée par :**

**KELCHE Christian**

DR, université de Strasbourg

**RAPPORTEURS :**

**BECKERS Tom**

**MARCHAND Alain**

**SANDNER Guy**

PR, université de Louvain

CR, université de Bordeaux

PR, université de Strasbourg

---

# Mécanismes neurobiologiques et comportementaux impliqués dans l'expression de la peur récente et ancienne à un contexte chez le Rat

## Résumé

Chez le rongeur, lorsque l'expression d'une peur conditionnée au contexte s'appuie sur un souvenir ancien, des réponses de peur importantes sont souvent rapportées lors de l'exposition à un contexte différent de celui dans lequel les chocs électriques ont été administrés. Cette généralisation des réponses de peur serait liée à une réorganisation concomitante des réseaux sous-tendant l'expression de la peur, en particulier à un « désengagement » de l'hippocampe dans le rappel des informations contextuelles. Cependant, d'autres études suggèrent que des modifications dans les traitements amenant à l'expression de comportements défensifs, liés à la peur ou l'anxiété, puissent également se mettre en place avec le temps suite à un conditionnement. Ainsi, une incubation des réponses de peur, correspondant à une augmentation globale des niveaux de peur avec le temps, pourrait contribuer à la généralisation de ces réponses. Nos travaux, par une approche d'imagerie de gènes précoces immédiats ainsi que d'évaluation comportementale, ont visé à démêler les mécanismes impliqués dans la généralisation de la peur conditionnée au contexte accompagnant sa consolidation à long terme. Nos résultats suggèrent que la généralisation soit moins liée à une altération du souvenir du contexte qu'à des modifications portant sur le traitement et / ou l'expression des émotions. La nature de ces dernières modifications semble dépendre du statut prédictif initial du contexte (en avant- ou en arrière-plan). De manière cohérente avec l'observation d'une absence de dégradation de la trace du contexte avec le temps, le rôle de l'hippocampe dans le rappel de l'information contextuelle nous est apparu maintenu au cours du temps. Les réorganisations observées dans les réseaux sous-tendant l'expression des réponses de peur concerneraient plutôt des modifications liées au traitement associatif et / ou émotionnel des informations contextuelles. Dans leur ensemble, nos résultats soulèvent la nécessaire prise en compte du haut degré de complexité des traitements amenant à l'expression d'une peur conditionnée, pour qui souhaite évaluer la qualité de la représentation contextuelle sur la base de réponses de peur discriminantes.

Conditionnement de peur ; Mémoire du contexte ; Généralisation ; Incubation ; Consolidation ; Anxiété ; Interactions hippocampo-corticales ; Amygdale étendue

## Summary

At remote delays following contextual fear conditioning in rodents, generalization of fear responses is usually described, as fear responses are elicited by exposure to a context different from the one in which footshocks were delivered. This generalization has been proposed to rely on the degradation and/or transformation of the memory trace due to systemic consolidation. The latter corresponds to the time-dependent reorganization of structures implicated in contextual fear expression, from networks involving the hippocampus to mainly cortical networks. However, other studies suggest that changes in defensive behaviors' expression tied to fear and anxiety might take place in the time period following a fear conditioning experience. Indeed, an incubation of fear responses, that is an overall increase in fear responses following contextual fear conditioning, has repeatedly been reported. Such changes in the processing of emotionally relevant information might represent an alternative explanation of a time-dependent generalization of fear responses. Using immediate early genes imaging and behavioral assessment, our studies aimed at disentangling the processes supporting fear generalization over time. Our results suggest that under some circumstances, changes in the fear responses' specificity might less be due to the dynamics of a memory system supporting the context representation than to alterations attributable to emotional information processing and/or expression. They point out dissociations in the latter changes between animals conditioned to a foreground or a background context. Consistent with our observation of a preserved detailed context memory trace, they also suggest that changes in the brain networks supporting the expression of a remotely acquired contextual fear might not reflect a time-dependent hippocampal-independency. Rather, the observed reorganization of neuronal networks might sustain changes in the associative and / or emotional information processing evoked by context exposure. Altogether, our results point out the need to take account of the high complexity of information processing leading to the onset of fear responses, when trying to infer the quality of a contextual representation on the basis of fear discrimination between contexts.

Fear conditioning ; Context memory ; Generalization ; Incubation ; Consolidation ; Anxiety ; hippocampo-cortical interactions ; Extended amygdala



« Le terme *aberration* est assez souvent pris en mauvaise part. On l'entend d'un écart à la normale qui se dirige vers le pire, et qui est un symptôme d'altération et de désagrégation des facultés mentales, qu'il se manifeste par des perversions du goût, des propos délirants, des pratiques étranges, parfois délictuelles.

Mais dans certaines branches de la science, ce même mot, tout en conservant une certaine couleur pathologique, peut désigner quelque excès de vitalité, une sorte de débordement d'énergie interne, qui aboutit à une production anormalement développée d'organes ou d'activité physique ou psychique. »

Paul Valéry, *Monsieur Teste*

## REMERCIEMENTS

Merci tout d'abord au Dr. Christian Kelche de m'avoir offert l'opportunité, sous sa direction, de me confronter à l'exercice de la recherche. Je tiens en premier lieu à souligner sa gestion exemplaire à la fois de son laboratoire et de la faculté de psychologie. De mes premiers pas jusqu'au « marathon final », durant ces quelques années passées au LINC, j'ai eu la chance inouïe de m'épanouir dans un cadre exceptionnel, dont il est le principal garant. Sa capacité à répondre à cette responsabilité sans commettre le moindre faux pas, ni même s'en plaindre, force le respect si ce n'est l'admiration. Je tiens à le remercier d'avoir su, en dépit de cette charge, m'offrir de son précieux temps pour me suivre dans la plupart de mes démarches. J'espère sincèrement avoir été à la hauteur du cadre particulièrement enrichissant, sur un plan scientifique comme humain, dans lequel il m'a permis d'évoluer.

Si je regrette qu'elle ne soit pas reconnue officiellement comme l'encadrante de mon travail de thèse, je tiens néanmoins à faire passer mes remerciements au Dr. Monique Majchrzak avant d'en formuler tout autre, n'en déplaie au protocole. En effet, son implication scientifique comme humaine dans mon parcours universitaire, depuis des années maintenant, m'a été si précieuse que je manque cruellement de superlatifs pour en esquisser les contours. Je la remercie sincèrement d'avoir eu la patience de brider mes excès tout en me poussant -hélas ! parfois en vain- à corriger mes manquements. Je suis d'autant plus redevable de ses multiples interventions que jamais elles n'ont été prononcées sur un ton condescendant ou même autoritaire. M'avoir permis de développer une certaine indépendance dans mes acquisitions conceptuelles, en me guidant sans m'imposer d'œillères, tout en opposant une critique rigoureuse à mes conjectures parfois « capillotractées », est une démonstration de pédagogie dans l'apprentissage de la recherche à laquelle trop peu de doctorants ont la chance d'être confrontés. Avoir tenu à placer nos interactions sur un pied d'égalité, alors même que je reste intimement convaincu de la large supériorité de tes compétences, s'est avéré extrêmement valorisant pour moi. N'en doutes pas, à mes yeux, tu as largement rempli ta part du contrat ; même si, de mon côté, je n'ignore pas -et regrette profondément- ne pas toujours avoir été à la hauteur du haut niveau d'attentes que tu sembles avoir placé en ma personne.

Bien que plus indirectement impliquée dans le suivi de l'évolution de cette thèse, le Dr. Alexandra Barbelivien mérite également sa place en tête de ces remerciements. En effet, son appui a été déterminant dans mon arrivée au laboratoire, et sa collaboration aux différentes expériences menées dans le cadre de cette thèse a été d'autant plus appréciable que ses propres activités, dans l'enseignement comme dans la recherche, représentent en elles-mêmes des charges à temps plein. Je lui suis donc extrêmement redevable d'avoir toujours gardé un œil sur un travail vis-à-vis duquel elle

n'était liée par aucune obligation. Mais aussi, à l'instar du Dr. Majchrzak, je la remercie d'avoir tenu, malgré mes réticences initiales, à affranchir nos relations d'un poids hiérarchique trop important, me poussant -non sans difficulté !- vers un apprentissage indépendant et responsable de l'exercice de la recherche. Ces interactions ont été un réel moteur pour moi.

Je remercie tout naturellement le Dr. Beckers, le Dr. Marchand le Dr. Sandner ainsi que le Dr. Veinante d'avoir accepté d'évaluer ce travail de thèse. En espérant que la lecture de ce manuscrit ne leur soit pas apparue comme autant de temps perdu, mais qu'elle ait bien aiguisé et / ou confirmé leur curiosité des problématiques qu'il aborde.

Je remercie également le Pr. Jean-Christophe Cassel, directeur de l'équipe de neurobiologie cognitive et comportementale du LINC, pour sa volonté actée de maintien de la cohésion des membres de son équipe. Le temps passé dans son équipe m'aura permis d'apprécier l'étendue de la culture d'un homme dont la conversation constitue un réel ravissement pour l'esprit. Fort heureusement pour moi, on ne peut que difficilement s'habituer à un sens aussi admirable de la rhétorique.

Un grand merci à Karin Geiger, qui a été très présente pour « abattre » une partie non négligeable de ce travail de thèse. Je tiens à saluer ses qualités pédagogiques ainsi que l'opiniâtreté dont elle fait preuve dans son travail, mais surtout (surtout !) je tiens à souligner combien sa compagnie est agréable. J'ai rarement connu quelqu'un empreint d'une joie de vivre aussi communicative. Assurément, sa présence et ses rires me manqueront beaucoup.

A Jean-Bastien et Lorène, je serai toujours redevable de m'avoir assisté au moment où j'en avais le plus besoin. La générosité, l'empathie, la réserve et la délicatesse dont ils ont fait preuve dans ces moments difficiles signent une noblesse d'âme dont la valeur n'a d'égale que la rareté. Qu'ils n'en doutent pas, mon respect et mon amitié les plus durables leurs sont acquis.

Je remercie enfin tous les autres membres du laboratoire. Si la place me manque pour leur adresser ici à chacun une pensée particulière, qu'ils ne doutent pas que je les tiens tous pour conjointement responsables de ce qui constituera la plus grande aliénation à laquelle j'aurai été soumis ces dernières années : comment pourrais-je désormais apprendre à apprécier la compagnie de quiconque, après m'être habitué à côtoyer des gens d'une si grande valeur ?

## ABBREVIATIONS

BLA = Noyau Basolatéral de l'Amygdale

CA1 = Champ Ammonique 1 de l'hippocampe dorsal

CA3 = Champ Ammonique 3 de l'hippocampe dorsal

CeA = Noyau Central de l'Amygdale

Cg 1 = Cortex Cingulaire Antérieur

Ento = Cortex Entorhinal

GD = Gyrus Denté

IL = Cortex Infralimbique

NST lat = Division Latérale du Noyau du Lit de la Strie Terminale

NST med = Division Médiane du Noyau du Lit de la Strie Terminale

NST vent = Division Ventrale du Noyau du Lit de la Strie Terminale

PAG dl = Division Dorsolatérale de la Substance Grise Périaqueducale

PAG vl = Division Ventrolatérale de la Substance Grise Périaqueducale

PRL = Cortex Prélimbique

vCA1 = Champ Ammonique 1 de l'hippocampe ventral

vCA3 = Champ Ammonique 3 de l'hippocampe ventral

Cond = Contexte de Conditionnement

Modif = Contexte Modifié

IS = Chocs Immédiats (*immediate shock*)

NS = Non-Conditionnés (*non-shocked*)

PA = Protocole d'appariement (*paired*)

UP = Protocole de non-appariement (*unpaired*)

### Mots-clés :

conditionnement de peur ; contexte ; discrimination ; généralisation ; incubation ; mémoire ; consolidation ; rappel ; anxiété ; prédictibilité ; c-Fos ; cortex préfrontal médian ; formation parahippocampique ; amygdale étendue.

# SOMMAIRE

## INTRODUCTION GENERALE

### CONTEXTE SCIENTIFIQUE

*Avant-propos : la Mémoire à Long Terme, notions historiques et classification* ..... 7

*I. Hippocampe et mémoire de type épisodique : théories de la consolidation systémique* ..... 12

- Le cas HM, une étude pionnière ..... 12
- L'hippocampe : données neuro-anatomiques ..... 13
- Formation hippocampique et mémoire configurale ..... 16
- Théorie standard de la consolidation systémique ..... 18
- Théorie des traces multiples / de la transformation ..... 20

*II. Mémoire de type épisodique: le modèle de la peur conditionnée au contexte en expérimentation animale* ..... 23

1. Peur conditionnée au contexte chez le Rat : lois et modèles ..... 23
2. La représentation d'un contexte comme modèle de mémoire épisodique ..... 28
3. Substrats neurobiologiques de la peur conditionnée au contexte ..... 31
  - 3.1. Amygdale étendue ..... 31
  - 3.2. Cortex Préfrontal median ..... 36
  - 3.3. Formation hippocampique ..... 40

*III. Peur conditionnée au contexte et mécanismes de consolidation : aspects mnémoniques de type épisodique, associatif et émotionnel à long terme lors d'une expérience aversive* ..... 44

1. La peur conditionnée au contexte : argument récurrent dans les théories de la consolidation ..... 44
2. Effets comportementaux d'une expérience aversive : incubation et modèles d'anxiété ..... 47

## CONTRIBUTION EXPERIMENTALE

### *CHAPITRE 1 : Substrat neurobiologique impliqué dans l'expression de la peur conditionnée au contexte*

#### EXPERIENCE PRINCIPALE

<b>1. Introduction .....</b>	<b>55</b>
<b>2. Matériels et Méthodes .....</b>	<b>62</b>
2.1. Conditionnement de peur.....	62
2.2. Marquage immunohistochimique de la protéine c-Fos.....	66
2.3. Analyses statistiques .....	69
<b>3. Résultats .....</b>	<b>73</b>
3.1. Conditionnement de peur.....	74
3.2. Test au contexte.....	75
3.3. Données brutes du nombre de neurones c-Fos positifs.....	80
3.4. Modélisation par analyse factorielle des résultats immunohistochimiques .....	82
3.5. Effet des conditions expérimentales sur les scores factoriels .....	88
<b>4. Discussion .....</b>	<b>96</b>
4.1. Données comportementales .....	96
4.2. Données immunohistochimiques .....	102

#### EXPERIENCE COMPLEMENTAIRE

<b>1. Introduction .....</b>	<b>117</b>
<b>2. Matériels et Méthodes .....</b>	<b>119</b>
2.1. Procédures.....	119
2.2. Analyses statistiques .....	120
<b>3. Résultats .....</b>	<b>121</b>
<b>4. Discussion .....</b>	<b>131</b>
4.1. Cortex Préfrontal médian.....	132
4.2. Amygdale étendue et hippocampe ventral.....	133
4.3. Hippocampe dorsal .....	134
4.4. Apports à l'expérience principale .....	136
4.5. Conclusions.....	138

## **CHAPITRE 2 : Caractérisation comportementale de l'incubation**

### **EXPERIENCE 1**

<b>1. Introduction .....</b>	<b>144</b>
<b>2. Matériels et Méthodes .....</b>	<b>147</b>
2.1. Procédures.....	147
2.2. Analyse statistiques.....	150
<b>3. Résultats .....</b>	<b>151</b>
3.1. Conditionnement.....	151
3.2. Tests au contexte .....	153
3.3. Test au son.....	158
<b>4. Discussion .....</b>	<b>162</b>
<b>5. Conclusion .....</b>	<b>166</b>

### **EXPERIENCE 2**

<b>1. Introduction .....</b>	<b>168</b>
<b>2. Matériels et Méthodes .....</b>	<b>169</b>
2.1 Procédures.....	170
2.2 Analyse statistiques.....	171
<b>3. Résultats .....</b>	<b>172</b>
3.1. Conditionnement.....	172
3.2. Expositions aux contextes.....	173
<b>4. Discussion .....</b>	<b>177</b>
<b>5. Conclusions .....</b>	<b>180</b>

### **EXPERIENCE 3**

<b>1. Introduction .....</b>	<b>182</b>
<b>2. Matériel et Méthodes.....</b>	<b>186</b>
2.1. Procédures.....	186
2.2. Analyses statistiques .....	189
<b>3. Résultats .....</b>	<b>190</b>
3.1. Conditionnement.....	190
3.2. Labyrinthe en croix surélevé : données brutes.....	192
3.3. Labyrinthe en croix surélevé : modélisation par analyse factorielle...	194
3.4. Analyse des scores factoriels .....	197
3.5. Test de la peur au contexte modifié .....	200
<b>4. Discussion .....</b>	<b>202</b>
<b>5. Conclusions .....</b>	<b>205</b>

## DISCUSSION GENERALE

### *I : Rôle des mécanismes émotionnels dans l'expression de la peur conditionnée au contexte à délai long*

1. Incubation et prédictibilité..... 207
2. Incubation et dynamique d'expression des réponses de freezing..... 209
3. Incubation et évaluation des contextes ..... 210
4. Conclusion : incubation et souvenir du contexte..... 212

### *II: Substrats neurobiologiques potentiels de la représentation du contexte et des modifications émotionnelles*

1. Hippocampe et représentation du contexte ..... 213
2. Cortex préfrontal et traitement cognitif en lien avec les émotions..... 215
3. Amygdale étendue et réponses de peur ..... 217
4. Conclusions ..... 219

## CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES



# Introduction

Quand nous réfléchissons à la manière dont nous parvenons à évoquer un lieu connu, un ensemble de processus mentaux nous vient spontanément à l'esprit : se souvenir d'un endroit, c'est reconstruire une image mentale basée sur un ensemble de données sensorielles ; les endroits ont une conformation, des textures et une forme qui leur sont propres, un fond sonore, un bruissement particulier, quelquefois une odeur qui les caractérise. Certains penseront également que ces lieux qui présentent un haut degré d'évocabilité dans notre mémoire, ceux dont nous jugeons pouvoir en restituer le moindre détail, sont généralement des endroits ayant revêtu, au cours de notre vie, une pertinence particulière. Les lieux ont une *saveur* : ils sont la scène du théâtre de nos vies et notre capacité à nous souvenir d'un contexte particulier se fait rarement indépendamment de l'évocation d'un événement nous y ayant marqué ou touché. Mais nous aurions tort de considérer cette saveur comme ne s'exprimant que sur le plan de la phénoménologie mnémonique, en la subordonnant totalement à nos souvenirs : les lieux, pour autant qu'ils en soient « imprimés », nous préparent à certaines inclinations mentales. C'est avec une certaine appréhension que nous visitons un hôpital, c'est sur notre lieu de travail que nous sommes les plus alertes, c'est chez soi que l'on se sent le plus en sécurité, même s'il est parfois difficile de faire l'inventaire complet des événements vécus en ces lieux.

Dès lors, comment situer cette relation paradoxale, entre dépendance et indépendance, marquée par des liens émotionnels profonds, entre les lieux et le souvenir des événements s'y étant déroulés ? Une tentative de réponse peut consister à considérer la question comme étant *a priori* mal posée : notre mémoire n'est pas uniquement constituée de souvenirs personnels, d'événements de vie dont le contexte ne serait qu'une donnée secondaire, dont on garderait une trace de surcroît. Dans ce cadre, les sciences cognitives et comportementales, *de facto* les neurosciences, nous apportent un grand nombre d'éléments de réponse. En effet, depuis le début du XX<sup>ème</sup> siècle, avec la poursuite des travaux d'Ivan Petrovitch Pavlov sur les mécanismes du conditionnement classique, puis les travaux de la psychologie cognitive sur les processus de rappel en mémoire à long terme, il est reconnu que notre mémoire est un ensemble hétérogène constitué de systèmes distincts. Ainsi, la distinction entre une mémoire à long terme regroupant les informations dites déclaratives, c'est-à-dire communicables, et une mémoire de type procédurale, associative, recoupant divers automatismes, a été proposée. C'est justement ce dernier type d'apprentissages associatifs qui nous permettent d'expliquer en quoi des contextes particuliers éveillent en nous des états affectifs et / ou cognitifs

particuliers, sans que l'on soit nécessairement conscients de l'évènement, l'apprentissage ayant amené à de telles modulations de notre fonctionnement psychoaffectif par l'environnement.

En effet, le conditionnement classique consiste en l'automatisation d'un lien entre un stimulus particulier *a priori* neutre et un stimulus naturellement pertinent pour l'organisme et amenant à une réponse innée (p.e. émotionnelle). La co-émergence systématique dans l'environnement des stimuli neutres et pertinents amène ainsi l'organisme à répondre aux premiers par une réponse dite conditionnée, semblable mais pas identique à la réponse naturelle. Dans un conditionnement répondant de ce type, il n'y a pas nécessité de conscience de l'association mise en place pour qu'une manifestation comportementale, végétative ou encore hormonale se manifeste. Ainsi, au quotidien, un certain nombre d'apprentissages associatifs est susceptible de se mettre en place à notre insu : une aversion alimentaire, dont nous ne pouvons pas toujours restituer l'origine précise, un état de tension lorsque nous croisons certaines personnes, ou encore des réactions physiologiques (« épidermiques » diraient certains) liées à certains environnements.

Si depuis Pavlov ces apprentissages ont fait l'objet de nombreux travaux visant à déterminer comment se forment les associations entre des stimuli discrets, on sait désormais que le contexte, ou la configuration particulière des éléments stables de l'environnement, perçus par les différentes modalités sensorielles, est lui aussi capable de faire l'objet de conditionnement. On n'apprend non pas uniquement à avoir peur d'un stimulus particulier (un son, une forme) mais aussi d'une situation, d'un contexte donné.

Les lieux peuvent donc acquérir une valeur émotionnelle lorsqu'ils font office, lors de l'apprentissage, de prédicteur de la survenue d'un événement aversif. Cependant, au-delà d'un mécanisme associatif le plaçant en relation de contingence directe avec un stimulus pertinent, le contexte peut prendre valeur de régulateur de l'expression d'un apprentissage associatif entre deux stimuli discrets, ce qui est démontré par exemple à travers les manipulations portant sur l'extinction d'une peur conditionnée. En effet, lorsque suite au conditionnement à un stimulus discret, ce dernier est présenté sans être associé au stimulus aversif, la réponse conditionnée exprimée par l'animal tend à se réduire progressivement en intensité. Or cette extinction, même complète, est dépendante du contexte dans lequel elle a lieu. Ainsi, lorsque l'on teste la réponse au stimulus discret, exprimée par l'animal dans un contexte différent de celui dans lequel a eu lieu l'extinction, on assiste généralement à un « retour » de l'expression

de la peur à ce stimulus. Dans ce type de situation, le contexte apparaît comme un régulateur de l'expression d'apprentissages émotionnels.

Cette capacité du contexte à provoquer et / ou moduler l'état émotionnel de l'organisme *via* des mécanismes de conditionnement répondant a fait l'objet de nombreuses études, tant chez l'être humain que chez l'animal. L'une de ses utilisations majeures au cours des vingt dernières années s'est faite dans le cadre d'études sur le substrat neurobiologique impliqué dans une mémoire de type épisodique chez le rongeur. Ces études ont cherché à trouver, chez le rongeur, un équivalent à ce que nous appelons communément nos souvenirs (les événements personnels les plus marquants de notre vie). Ainsi, elles sont parties de la définition de ce type de mémoire chez l'être humain, à savoir la capacité à restituer des informations sur les événements de notre vie, (re)vécus à la première personne et dans un contexte spatial et temporel précis. Le degré de conscience de la réminiscence ne pouvant être évalué chez l'animal sans éviter l'écueil de l'anthropomorphisme, et la connaissance d'un contexte temporel étant extrêmement difficile à mettre en évidence, les capacités de rappel d'informations contextuelles sont apparues comme l'un des modèles d'étude les plus adaptés de la mémoire épisodique. Ce faisant, la peur conditionnée au contexte, présumant un encodage de l'environnement physique pour être mise en place et restituée, est devenu l'un des principaux outils d'exploration du stockage en mémoire de ce type de représentation.

Dans ce cadre, une question posée de manière prépondérante concerne les structures anatomiques impliquées dans le rappel d'une représentation contextuelle en fonction de son ancienneté. Notamment, des tentatives répétées ont visé à éclaircir le rôle de l'hippocampe, structure du lobe temporal médian, dans le rappel des informations épisodiques / contextuelles et spatiales. En effet, s'il est depuis longtemps reconnu que cette structure joue un rôle prépondérant dans l'acquisition de nouveaux souvenirs autobiographiques chez l'être humain, son implication dans le maintien à long terme de ces mêmes souvenirs a fait l'objet de discussions controversées jusqu'à récemment, discussions ayant initié de nombreuses études chez le rongeur. L'implication sur une longue durée (supérieure à un mois) de l'hippocampe dans l'expression de la peur conditionnée au contexte semble en effet faire l'objet d'une variabilité particulièrement saillante à travers les données de la littérature. Ainsi, si l'observation d'une amnésie rétrograde après la lésion de cette structure est commune chez l'animal, ceci ne semble être le cas que pour des informations ayant été récemment acquises. En effet, les auteurs intéressés par l'implication de l'hippocampe dans le rappel des

représentations plus anciennes ont pour certains rapporté l'observation d'un gradient temporel dans l'amnésie rétrograde (p.e. absence d'effet de la lésion hippocampique sur le rappel de souvenirs anciens), alors que d'autres n'ont pas observé un tel gradient (nécessité de l'intégrité de l'hippocampe quel que soit le délai de rappel). Lorsque les premiers ont conclu à une réorganisation systémique des réseaux neuronaux sous-tendant le rappel de l'information marquée par un désengagement de l'hippocampe au profit d'aires corticales, les seconds ont avancé l'hypothèse d'un maintien de l'implication de l'hippocampe. Une tentative de réconciliation de ces divergences a alors consisté à considérer que les représentations utilisées par les animaux dans ces deux types d'études étaient de qualité différente, du fait de ladite réorganisation des réseaux sous-jacents. En effet, les animaux ne présentant pas de déficit de rappel à délai long suite à une lésion auraient utilisé une trace mnésique soit quantitativement (dégradation et perte en détails de la représentation du contexte liée à la migration de la trace), soit qualitativement (seconde représentation située au niveau du cortex, schématique celle-ci, de l'environnement conditionné *versus* une représentation détaillée) différente de celle utilisée lors du rappel d'une information récente et riche en détails, cette dernière étant nécessairement dépendante de l'hippocampe. L'un des renforts de cette explication a consisté en l'observation, à ces mêmes délais longs, d'une généralisation de la peur conditionnée à d'autres contextes. Celle-ci a été alors interprétée comme révélant une incapacité à discriminer le contexte de conditionnement, du fait de l'appauvrissement de son souvenir ou de l'utilisation d'une autre représentation plus générale de l'environnement.

De fait, pour conclure au lien étroit qu'entretient l'hippocampe avec le rappel d'informations contextuelles riches (indépendamment du délai), la réponse de peur conditionnée exprimée par les animaux, tout comme sa généralisation, ont été évaluées exclusivement à l'aune de la composante mnémonique qu'implique la performance comportementale mesurée dans ces études. Elles ont présupposé une relation directe entre l'amplitude de l'expression de peur, le caractère discriminant de celle-ci et la qualité de la trace remémorée. Si nul ne doutera du fait que la reconnaissance du contexte est une étape-clé (sollicitant une représentation de type épisodique et située en amont du traitement de l'information) dans la mise en place d'une réponse de peur conditionnée, ces études ont cependant omis de prendre en considération le caractère automatisé / associatif du traitement en aval amenant à la réponse émotionnelle. En d'autres termes, comme nous le disions plus

tôt, que les réminiscences émotionnelles évoquées par un contexte sont pour part indépendantes de nos souvenirs. En effet, l'hypothèse qu'une généralisation des réponses de peur puisse émerger de modifications portant sur le traitement émotionnel d'un contexte qui a été correctement reconnu, voire sur les systèmes de « sortie comportementale », n'a été que peu envisagée.

Or, un autre pan de la littérature, centré au départ non sur les systèmes de mémoire, mais sur le développement et la caractérisation de modèles des troubles anxieux (généralisé / post-traumatique), s'est également intéressé aux effets à plus ou moins long terme de l'administration de chocs électriques à des rats, cette dernière constituant la méthode la plus employée pour conditionner des animaux à un contexte. Ces études révèlent la capacité de telles stimulations aversives à induire des modifications à long terme dans les niveaux d'anxiété exprimés par les animaux dans différentes situations expérimentales. Concernant plus particulièrement les réponses conditionnées, quelques auteurs ont rapporté avoir observé, à délai long après l'apprentissage, une incubation / sensibilisation des réponses de peur conditionnées au contexte, obtenant un niveau de peur globalement plus important à ces mêmes délais où la généralisation de son expression est souvent décrite. Mises au regard de la proposition par certains auteurs d'une pré-éminence des facteurs non-associatifs (donc indépendants du souvenir du contexte) dans le caractère continu de l'amplitude des réponses de peur conditionnées, par opposition à des facteurs associatifs plus « catégoriels » (reconnaissance ou pas), ces données peuvent alors prendre un sens pertinent pour la littérature portant sur les systèmes de mémoire : elles soulèvent l'importance que pourraient revêtir des mécanismes émotionnels dans l'expression de la peur conditionnée à délai long. De fait, elles nous amènent à reconsidérer le lien complexe unissant le souvenir des caractéristiques du contexte, la dimension émotionnelle de ce souvenir et le comportement exprimé en fonction de son ancienneté, ainsi que les éventuelles modifications au cours du temps du réseau neuronal intégrant ces composantes.

L'objectif de ce travail de thèse a donc été de reconsidérer les travaux portant sur la consolidation systémique des représentations contextuelles, en y interrogeant les processus-clés de traitement de l'information amenant aux variations comportementales observées au cours du temps, plus particulièrement la généralisation des réponses de peur. Pour ce faire, nous nous sommes appuyés sur des protocoles de conditionnement induisant des niveaux de

peur au contexte variables à délai court et nos études se sont orientées vers deux axes complémentaires :

- La caractérisation des réseaux neuronaux sous-tendant l'expression de la peur conditionnée au contexte à court et à long terme. Cette caractérisation s'appuie sur la quantification à grande échelle d'un marqueur d'activité neuronale, dans une situation nous permettant de comparer à la fois des variations liées à la mise en place d'une incubation ainsi que la spécificité de ces réseaux en fonction du contexte d'exposition.
- La caractérisation de cette incubation et de son rôle dans la généralisation des réponses de peur, par l'étude des conditions expérimentales permettant sa mise en place et l'évaluation approfondie de son expression.

# Contexte Scientifique

### **Avant-propos : la Mémoire à Long Terme, notions historiques et classification**

A l'instar d'un grand nombre de fonctions cognitives, l'étude de la mémoire a, des millénaires durant, été l'objet de réflexions abordées principalement selon une logique métaphysique, de Platon (*le Théétète*) à Freud en passant par Descartes (*Discours de la Méthode*). Ce n'est que récemment que la formalisation de la psychologie aux méthodes et critères scientifiques a permis une étude systématique d'un phénomène qui, longtemps, a été considéré comme une propriété unitaire de l'âme (et donc propre à l'Homme). En effet, la mémoire n'est actuellement plus considérée comme une fonction cognitive unitaire, mais comme un ensemble de systèmes qui, bien que complémentaires, apparaissent indépendants dans leur fonctionnement.

Dans ce cadre, l'une des premières divisions a été suggérée par le physiologiste W. James en 1890, qui proposait de dissocier une mémoire primaire (de quelques minutes, « extension du présent ») d'une mémoire secondaire (de durée indéterminée, « retour en arrière »). Ce n'est que plus tard que la psychologie cognitive a apporté une validation à cette proposition, en démontrant une séparation entre un registre de mémoire à court terme et un registre de mémoire à long terme. Par exemple, les premières études chez l'être humain portant sur l'apprentissage et la restitution de listes de mots ont mis en exergue certaines différences liées au délai (immédiat vs. différé de quelques minutes) séparant ces deux phases (Postman & Philips 1965). Ainsi, l'observation de courbes de positions sérielles (% de restitution d'un mot en fonction de sa position dans la liste) démontre généralement des effets dits de primauté et de récence. Lorsqu'un rappel libre immédiat est demandé aux sujets, les derniers mots des listes sont généralement mieux restitués que ceux du milieu (récence, liée à une mémoire à court terme), alors que les premiers mots sont toujours rappelés dans une proportion plus importante quel que soit le délai séparant l'apprentissage de la restitution (primauté, les premiers mots font l'objet d'une répétition mentale plus importante et passent en mémoire à long terme). Une telle dissociation temporelle a ainsi amené les auteurs à proposer que la mémoire ne soit pas un processus unitaire mais composite, incluant un registre à court terme distinguable d'un registre à long terme. La mise en exergue de règles de fonctionnement différentes entre ces systèmes, ainsi que l'appui offert par la neuropsychologie par l'observation de dissociations dans les troubles de ces deux registres (voir plus loin, cas du patient HM), ont amené à la proposition d'un premier modèle cognitif du fonctionnement mnésique, formalisé par Atkinson et Shiffrin en 1968 (Figure 1).



**Figure 1** : Représentation du modèle dit modal du fonctionnement mnémonique formulé par Atkinson et Shiffrin (1968).

Par la suite, ce modèle dit modal de la mémoire a été largement complété par une caractérisation toujours plus poussée des systèmes le composant. Si d'une part la notion de mémoire à court terme s'est considérablement développée, notamment sur la base des nombreux travaux de Baddeley (pour revues récentes, Baddeley 2010, 2012), pour muer en un concept de mémoire de travail (système hétérogène de mémoire à court terme activement impliqué dans le traitement des informations et leur récupération en mémoire à long terme), il est notable que de nombreuses théories ont porté sur une dissociation au sein-même de la mémoire à long terme. Notamment, plusieurs propositions de divisions binaires en ont été proposées sur la base de critères propres : mémoire déclarative et procédurale (communicabilité du savoir, Cohen & Squire 1980), mémoire sémantique et épisodique (contextualisation de l'information rappelée, Tulving, 1972), ou encore mémoire explicite et implicite (degré de conscience de l'information lors de son rappel, Graf & Schacter, 1985). Une synthèse de ces différents systèmes a été proposée par Tulving en 1984, et constitue encore à l'heure actuelle l'un des modèles de référence en psychologie et neurosciences cognitives. Pour lui, chaque système de mémoire peut être caractérisé selon trois critères : le type d'informations traitées, ses règles opératoires et ses substrats neurobiologiques. Ainsi, il distingue trois systèmes de mémoire à long terme :

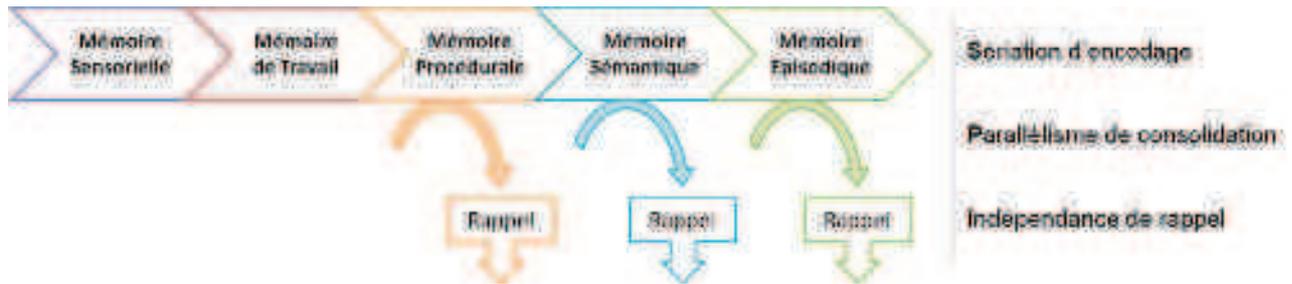
▲ La mémoire procédurale est une mémoire des associations entre des stimuli, des émotions et des comportements (moteurs ou cognitifs). De fait, elle regroupe un ensemble d'apprentissages allant de l'acquisition d'habiletés motrices jusqu'aux automatismes cognitifs. Cette mémoire est non communicable en cela que des efforts de verbalisation ne suffisent pas à sa transmission ; elle est indissociable de l'action et son acquisition est essentiellement basée sur la répétition. Si les structures cérébrales sous-tendant ce type de mémoire dépendent du type d'informations associées, il est généralement admis que des structures sous-corticales

soient particulièrement impliquées (par exemple le striatum pour des automatismes moteurs, les noyaux amygdaliens dans des apprentissages émotionnels ; exception faite de l'amorçage sémantique, cortical).

▲ La mémoire sémantique est la mémoire des mots, des concepts, des croyances et des connaissances générales sur le monde. Ces connaissances sont décontextualisées en ce qu'elles peuvent être évoquées indépendamment de la réminiscence des expériences ayant amené à leur acquisition, et en ce que le contexte de rappel de ces informations n'affecte que très peu leur mémorisation. Le rappel de cette mémoire sémantique impliquerait un large réseau neuronal, recouvrant essentiellement des réseaux néocorticaux (cortex parahippocampiques associés à des modules néocorticaux, eux-mêmes fonctions du sous-type d'informations concernées ; image mentale, connaissance lexicale, abstraite...).

▲ Enfin, la mémoire épisodique est la mémoire des souvenirs personnellement vécus, ce qui implique une association de ces événements à leur contexte spatial et temporel d'acquisition. Cette contextualisation des informations apparaît plus avant à travers l'effet facilitateur sur le rappel de la cohérence entre les contextes d'acquisition et de mémorisation. De fait, ce système de mémoire est généralement considéré comme moins stable que la mémoire sémantique. L'acquisition des souvenirs en mémoire épisodique semblerait dépendre de l'intégrité du lobe temporal médian, et plus particulièrement de la formation hippocampique.

Plus récemment, Tulving a décrit les relations existant entre les différents systèmes de mémoire dans son modèle SPI (Figure 2, Serial Parallel Independent, 1995), proposant des degrés d'interaction différents entre les systèmes de mémoire en fonction du processus à l'œuvre. En effet, parallèlement à ce découpage topologique des systèmes de mémoire, une conception dynamique en termes de processus mnémoniques est souvent employée dans la description de la formation et de la restitution des souvenirs. On distingue classiquement des processus d'encodage (formation de la représentation, future trace mnésique), de consolidation/stockage (renforcement de cette représentation permettant son maintien à long terme) et des processus de rappel (restitution de l'information).



**Figure 2 :** Représentation du modèle proposé par Tulving en 1995 distinguant les relations entre les différents types de mémoire à long terme en fonction des processus mnésiques en jeu.

La conception de Tulving s'oppose au modèle unitaire de la mémoire déclarative, regroupant mémoire sémantique et épisodique (Squire & Knowlton, 1995). Ce dernier modèle considère en effet que la mémoire sémantique est un sous-produit de la mémoire épisodique : la répétition de certaines informations à travers différents épisodes aboutirait à une décontextualisation de ces informations, par un processus d'extraction sémantique (Moscovitch et al., 2005, 2006). Cette théorie, si elle permet de rendre compte notamment de certains recouvrements dans les systèmes neuronaux mis en jeu dans le rappel en mémoire sémantique et épisodique, se heurte cependant à certaines observations contradictoires. En effet, elle suppose qu'un déficit dans l'encodage en mémoire épisodique devrait aboutir à des déficits en mémoire sémantique, ce qui n'est pas le cas. Par exemple, Vargha-Khadem et ses collaborateurs (1977) ont rapporté des déficits, chez des patients cérébro-lésés, du premier type de mémoire mais pas du second. De même, le patient amnésique KC présentait une dissociation dans son incapacité à se souvenir d'éléments du passé, étant incapable de rappeler des souvenirs en mémoire épisodique sur une période de vie plus longue que ses connaissances en mémoire sémantique (Tulving et al., 1988 ; Tulving et al., 1991 ; Rosenbaum et al., 2005). C'est pourquoi Tulving propose, dans son modèle SPI de la mémoire, que les informations suivraient bien un encodage séquentiel entre mémoire sémantique et épisodique, mais dans le sens inverse (l'encodage du « quoi » d'un événement précéderait son association à un « où » et un « quand »). Cette conception s'appuie sur des arguments portant sur le développement ontogénétique de ces systèmes de mémoire, l'émergence de connaissances sémantiques précédant celle de souvenirs épisodiques, mais aussi sur les connaissances neuro-anatomiques : la mémoire sémantique dépendante du cortex parahippocampique serait recrutée « en amont » d'un traitement de l'information épisodique se faisant au niveau de l'hippocampe. Contrairement à un encodage séquentiel entre les différents systèmes de mémoire, la consolidation/le stockage des informations se ferait en parallèle dans

chacun des systèmes, tandis que la récupération de l'une ou l'autre des informations ainsi stockées se ferait indépendamment de celles sous-tendues par les autres systèmes de mémoire à long terme.

Or, si la mémoire épisodique fait l'objet de riches débats concernant les relations qu'elle entretient avec la mémoire sémantique, une autre de ses caractéristiques est aujourd'hui étudiée de manière extensive : son substrat neurobiologique en relation avec les différents types de processus mnésiques à l'œuvre. En effet, si l'implication de l'hippocampe dans l'encodage de tels souvenirs est généralement admise, l'implication de cette structure dans la consolidation et le rappel des informations épisodiques en fonction de l'âge de ces souvenirs, ne fait pas pour l'heure l'objet d'un consensus.

## I. Hippocampe et mémoire de type épisodique : théories de la consolidation systémique

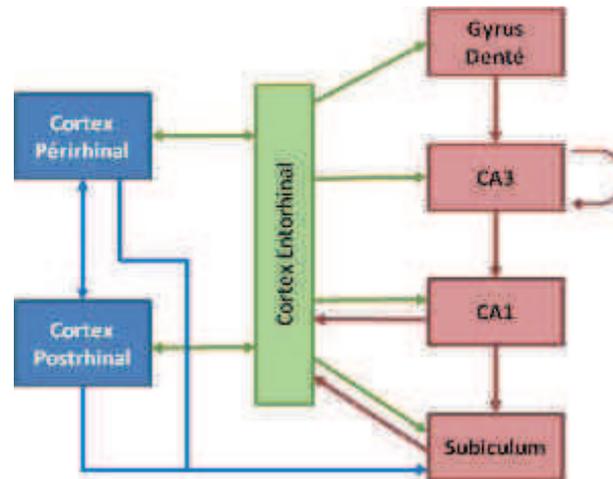
### ➤ Le cas HM, une étude pionnière

L'intérêt pour la formation hippocampique dans les processus mnémoniques, et plus particulièrement épisodiques, a émergé de l'étude de cas en neuropsychologie de Brenda Milner et son équipe du patient HM (Henry Molaison), patient ayant du subir en 1953 une résection bilatérale du lobe temporal médian, incluant notamment les deux tiers antérieurs de l'hippocampe, dans le but de le soulager d'une épilepsie temporale (Scoville & Milner, 1957 ; Penfield & Milner, 1958). Or, suite à cette opération, ce patient présentait des déficits cognitifs impressionnants par leur spécificité : si HM ne présentait pas de déclin intellectuel ou perceptif marqué ni de déficit en mémoire à court terme, sa mémoire à long terme s'est avérée particulièrement atteinte du fait de ces lésions. Le principal déficit observé consistait en une amnésie antérograde, ou « amnésie de l'avenir » : ce patient présentait une incapacité à stocker à long terme de nouvelles informations telles que le visage d'inconnus ou ses réalisations quotidiennes. Cependant, l'amnésie antérograde présentée par HM s'avérait spécifique à la mémoire déclarative (regroupant les systèmes de mémoire sémantique et épisodique). Ainsi, la capacité d'HM à acquérir de nouvelles habiletés procédurales sensorimotrices (telles que la capacité à dessiner avec pour seul retour visuel le reflet d'un miroir) s'est avérée préservée bien qu'il soit demeuré incapable de ré-évoquer tout souvenir de séances d'entraînement. Si cette implication de l'hippocampe dans la mémoire déclarative antérograde est aujourd'hui solidement ancrée dans les théories neuropsychologiques du fonctionnement mnésique (Tulving & Markovitch, 1998), le profil de déficits que présentait HM en termes d'amnésie rétrograde (portant sur la « mémoire du passé ») a révélé une spécificité faisant encore actuellement l'objet de discussions. Ainsi, si HM présentait bien une incapacité à se souvenir d'événements de son passé, cette amnésie présentait un gradient temporel : seuls les souvenirs les plus récents (début de la décennie 1950) apparaissaient perturbés. Par exemple, il était incapable de reconnaître les visages d'individus devenus de notoriété publique après le début des années 1950 (Marlsen-Wilson & Teuber, 1975). Cette amnésie rétrograde temporellement graduée s'est avérée d'importance majeure car soulevant la possibilité que l'engramme (« l'incarnation ») d'un souvenir puisse migrer au cours de sa consolidation sur une longue

durée, d'un réseau principalement centré autour de l'hippocampe vers des réseaux essentiellement néocorticaux (voir la théorie standard de la consolidation, abordée plus loin). De fait, elle a amené au développement de plusieurs théories dont seront ici mentionnées les deux principales, à savoir la théorie standard de la consolidation ainsi que la théorie de la trace multiple (théorie de la transformation), que nous aborderons après avoir succinctement décrit la formation hippocampique, ainsi que son rôle dans la mémoire.

➤ L'hippocampe : données neuro-anatomiques

L'hippocampe est une structure d'un ensemble fonctionnel du lobe temporal médian, très ancienne et très conservée d'un point de vue phylogénétique, s'agissant d'une structure archicorticale. Nous en donnerons ici une description basée essentiellement sur son étude chez le rongeur. Au sens strict, le terme de formation hippocampique désigne un ensemble restreint de structures incluant les cornes d'Amon (1 à 3), le subiculum et le gyrus denté (en fonction des classifications). D'un point de vue cytoarchitectural, le cortex de la formation hippocampique peut être divisée en trois couches : une couche superficielle, constituée des fibres afférentes et dénommée *stratum moleculare* ; une couche intermédiaire, présentant la plus forte densité de neurones de projection et d'interneurones, appelée couche granulaire dans le gyrus denté et couche pyramidale dans les autres sous-champs ; enfin une couche profonde, polymorphe (présence d'interneurones tout comme de fibres afférentes et efférentes) désignée par le terme de *hile* du gyrus denté ou de *stratum oriens* dans le reste de la formation hippocampique. Classiquement, les relations entre les différents sous-champs hippocampiques sont décrites par la notion de boucle polysynaptique (ou trisynaptique), faisant référence à des projections apparaissant majoritairement univoques et orientées dans le sens de la morphologie circulaire de cette structure (Fig 3, van Strien et al., 2009) :



**Figure 3** : Représentation schématique des principales connexions de la formation parahippocampiques impliquées dans la boucle polysynaptique (adapté de van Strien et al., 2009).

Le gyrus denté projetterait *via* les fibres moussues vers l'aire CA3, qui, tout en formant une boucle auto-associative, enverrait *via* les collatérales de Schaeffer des efférences vers CA1, qui projetterait à son tour vers le subiculum, « voie de sortie » des informations. Celui-ci projetterait sur un ensemble de structures comprenant les cortex infralimbique, prélimbique, cingulaire, rétrosplénial et parahippocampique, ainsi qu'à un niveau sous-cortical sur les corps mamillaires, le noyau accumbens, le complexe amygdalien -notamment le noyau basolatéral de l'amygdale-, l'hypothalamus et le thalamus (Amaral & Witter, 1995). A noter que bien qu'elles semblent minoritaires par rapport à ces sorties subiculaires, des projections directes de l'aire CA1 vers certaines de ces structures ont pu être mises en évidence. En effet, de manière générale, si cette notion de boucle apparaît séduisante de par sa simplicité, elle tend cependant à omettre de rendre compte des multiples connexions réciproques intrinsèques et extrinsèques à l'hippocampe depuis lors (re)mises en évidence par la littérature (pour revue et diagramme complet, voir van Strien et al., 2009).

A un niveau plus large, on parle de région parahippocampique pour désigner la formation hippocampique associée aux structures adjacentes du lobe temporal médian, avec lesquelles elle entretient des liens étroits. Ainsi, la région parahippocampique recouvre l'hippocampe, le présubiculum, parasubiculum et les cortex pérorhinal, postorhinal et entorhinal (néocortex). Nous relèverons tout particulièrement l'importance de ce dernier, qui est souvent tenu comme étant le principal interlocuteur de l'hippocampe : la voie perforante en provenance du cortex entorhinal (principalement de la couche II) vers le gyrus denté et CA3 est en effet souvent tenue pour point de départ de la boucle polysynaptique, bien que des

projections directes (couche III) par cette voie vers CA1 aient été démontrées. En retour, le cortex entorhinal semble recevoir un nombre important d'informations en provenance de la formation hippocampique, CA1 et le subiculum projetant vers les couches profondes (V et VI) de cette structure. Le cortex entorhinal communique lui-même avec un ensemble d'aires corticales, dont en premier lieu deux autres structures de la région parahippocampique, les cortex périrhinal et postrhinal (cortex parahippocampique chez l'être humain ; Burwell & Amaral, 1998a et 1998b). Le premier a été décrit comme impliqué dans le traitement des propriétés des objets et de stimuli complexes (Norman & Eacott, 2005), quand le second serait impliqué dans la reconnaissance de changements spatiaux (Bohbot et al., 2000). Par ailleurs, le cortex entorhinal recevrait un grand nombre de projections de structures impliquées dans le traitement de l'information olfactive telles que le cortex piriforme, le bulbe olfactif et les noyaux olfactifs antérieurs (Amaral & Witter, 1995). Il recevrait également un certain nombre d'afférences en provenance de régions préfrontales telles que le cortex moteur (primaire et aire supplémentaire), ainsi que les cortex associatifs orbito-frontal, prélimbique, infra-limbique et cingulaire antérieur. D'autres sources d'informations notables du cortex entorhinal proviendraient d'aires corticales, insulaires (aires agrulaires, viscérales et gustatives), pariétales (aires somatosensorielles primaire et supplémentaire) et visuelles (aires primaires et associatives), mais aussi sous-corticales, telles que des noyaux amygdaliens (principalement des noyaux latéral, basal, basal accessoire, médian et cortical postérieur, Pitkänen et al., 2000), thalamiques (noyaux reuniens, rhomboïde, paraventriculaire, paraténial et medialis centralis, Amaral & Witter 1995) et hypothalamiques (noyaux supramamillaires, tubéromamillaire, ventromédian et dorsomédian, aires latérale, préoptique et antérieure, Amaral & Witter 1995 ; Calderazzo et al., 1996). En retour, le cortex entorhinal enverrait des projections vers un ensemble très étendu de structures, en particulier celles dont il reçoit les afférences (Swanson & Köhler, 1986 ; Insausti et al., 1997 ; McDonald & Mascagni, 1997 ; Burwell & Amaral, 1998a et 1998b ; Pitkänen et al., 2000).

Du fait de ces patrons de connexions, la formation (para)hippocampique représente donc à la fois un ensemble anatomiquement cohésif (représenté par un traitement organisé et « circulaire » de l'information), tout en s'avérant à même de traiter et d'associer un ensemble d'informations de natures différentes. De fait, elle a été très rapidement proposée comme étant capable de synthétiser les nombreuses informations multimodales qui y convergent en des

représentations dites configurales ou conjonctives, liant des stimuli traités par différents systèmes spécialisés en des représentations unitaires.

➤ Formation hippocampique et mémoire configurale

L'hypothèse selon laquelle l'activité hippocampique pourrait permettre la formation de représentations configurales provient, d'une part, de l'observation de boucles auto-associatives dans CA3 apparaissant particulièrement adaptées en tant que substrat potentiel de la formation de représentations conjonctives unissant différents stimuli (Hebb 1949 ; Marr 1971) et, d'autre part, des études de patients amnésiques présentant une lésion de cette structure. En effet, ces patients, qui présentent une amnésie antérograde, semblent particulièrement déficitaires dans leur capacité à lier de nouvelles associations de stimuli (Marr, 1971 ; Wickelgren, 1979 ; Teyler & Discenna, 1986 ; Squire, 1992). Outre cette implication dans l'acquisition de telles associations, Teyler et Discenna (1986) ont proposé un rôle de l'hippocampe dans leur rappel : il représenterait un « index mnémorique » capable de réactiver de manière conjointe les modules corticaux ayant été associés au cours d'une expérience, lorsque son recrutement est sollicité par la présence d'un sous-ensemble d'indices propres à cette expérience.

De manière cohérente avec cette vision de l'hippocampe comme intégrant différentes informations en des représentations unifiées, il est notable qu'un ensemble de déficits de mémoire spatiale soit observé lors d'une atteinte de cette structure chez l'humain (Kessels et al., 2001 ; Astur et al., 2002), comme chez le rongeur (Olton & Werz, 1978 ; Morris, 1982 ; Barnes, 1988 ; Packard & McGaugh, 1996). Or, la capacité à s'orienter dans un environnement donné (par extension l'apprentissage spatial) est généralement considérée comme étant tributaire de la capacité à se former une carte cognitive de cet environnement spatial, basée sur la configuration des éléments qui le composent (O'Keefe & Nadel, 1978), ainsi que la capacité à associer la cible à atteindre à une position dans cette représentation (McNaughton & Morris, 1987 ; McNaughton & Nadel, 1990). Dans ce cadre nous noterons la présence de cellules de lieu ayant été démontrée dans les aires CA1 et CA3 de l'hippocampe, d'abord découvertes chez le Rat (O'Keefe & Dostrovsky, 1971) et plus récemment chez l'Homme (Ekstrom et al., 2003). Il s'agit d'un ensemble de neurones définis par un champ d'activité spatial, c'est-à-dire qu'elles présentent un patron de décharges dépendants de la

position de l'animal dans son environnement, passée une phase de stabilisation de quelques minutes, indépendamment du temps passé ensuite à cet endroit ou de la direction de l'animal (Muller, 1996 ; Poucet et al., 2003).

Par ailleurs, une atteinte de l'hippocampe aboutit à des déficits se manifestant dans un ensemble de tâches requérant la mise en place de représentations conjonctives, et pas uniquement dans des tâches de navigation spatiale (Fanselow, 1990 ; Hall & Honey, 1990 ; Kim & Fanselow, 1992 ; Save et al., 1992 ; Kesner 2007). De fait, l'implication de l'hippocampe dans la mémoire spatiale est actuellement considérée comme relevant d'un cas particulier du fonctionnement hippocampique (Sutherland & Rudy, 1989 ; McClelland et al., 1995 ; O'Reilly & Rudy, 2001). Ainsi, cette capacité générale de l'hippocampe à associer différents éléments d'une expérience en une représentation unifiée a très vite été rapprochée du système de mémoire épisodique proposé par Tulving en 1972, se caractérisant par l'association d'un souvenir avec un contexte spatial et temporel particulier (Tulving & Markovitch, 1998). En effet, l'étude de patients a permis de mettre en évidence une implication de la formation hippocampique dans la mémoire déclarative, notamment épisodique. Ainsi, les patients porteurs d'une atteinte sélective de l'hippocampe semblent présenter des déficits dans ce type de mémoire de manière consistante (par exemple Press et al., 1989 ; Rempel-Clower et al., 1996). Cependant, l'existence d'un gradient temporel d'amnésie rétrograde (Rempel-Clower et al., 1996 ; Bailey et al., 2003 ; Kirwan et al., 2008) suggère que cette implication ne soit que temporaire. Cette hypothèse est cohérente avec les données issues d'expériences d'imagerie fonctionnelle par résonance magnétique mettant en évidence un niveau d'activité du lobe temporal médian plus bas pour le rappel d'informations anciennes que récentes, que l'information soit sémantique (Haist et al., 2001 ; Douville et al., 2005 ; Smith & Squire, 2009) ou épisodique (Niki & Luo, 2002 ; Piefke et al., 2003). Cependant, ce gradient temporel n'a pas été systématiquement mis en évidence par les études en neurosciences cognitives. Ainsi, une activation du lobe temporal médian lors du rappel de souvenirs anciens a été démontrée dans plusieurs études d'imagerie cérébrale fonctionnelle (Maguire et al., 2001 ; Ryan et al., 2001 ; Nadel et al., 2007 ; Viard et al., 2010). De plus, certains patients amnésiques présentent des déficits de mémoire apparaissant spécifiquement dans la restitution de souvenirs très détaillés, suggérant une dissociation entre une mémoire épisodique ancienne riche en détails perturbée par les lésions du lobe temporal et une

mémoire sémantique plus générale épargnée par de telles lésions (Rosenbaum et al., 2000 ; Moscovitch et al., 2005 ; Gilboa et al., 2006). Nous noterons que par delà leur confirmation d'une implication de la région parahippocampique dans la formation de représentations conjonctives de stimuli telles que rencontrées en mémoire épisodique, et la capacité de l'hippocampe à jouer (au moins à court terme) le rôle de « chef d'orchestre » de modules corticaux tel que proposé par Teyler et Discenna (1986), ces données soulèvent une contradiction quant à la durée de l'implication de l'hippocampe dans le rappel d'une telle information conjonctive en mémoire de type épisodique.

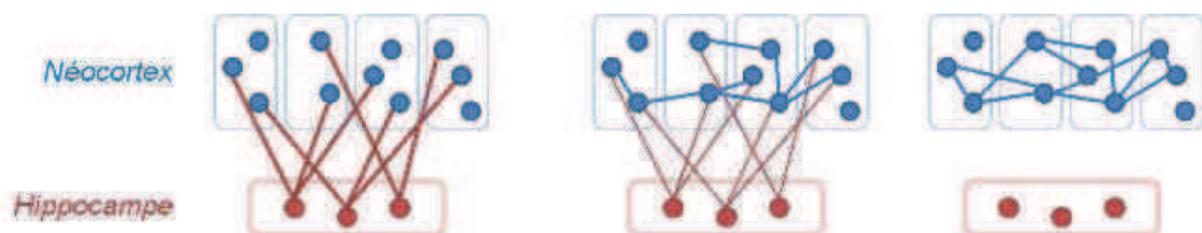
Ainsi, de nombreuses études ont visé à éclaircir le rôle joué par l'hippocampe dans la consolidation en mémoire à long terme. Ce faisant, elles ont mis en exergue une dynamique « à deux vitesses » de la consolidation, en dégageant d'une part une phase de consolidation synaptique, d'instauration précoce, mettant en jeu des processus de plasticité fonctionnelle et structurelle au niveau des synapses de l'hippocampe, et d'autre part une consolidation systémique, plus tardive dans le temps, impliquant des modifications au niveau des ensembles neuronaux recrutés dans le rappel d'une information en fonction de son âge (à l'échelle de jours voire d'années, Dudai & Morris, 2000 ; Dudai, 2004).

A l'échelle des systèmes, le rôle de l'hippocampe a fait l'objet d'un intérêt particulier, du fait de l'obtention de données contradictoires concernant son implication à plus ou moins long terme dans la restitution de souvenirs épisodiques chez l'être humain. Notamment, deux principales théories s'opposent sur la question de son implication dans le rappel d'une information ancienne : la théorie standard de la consolidation et la théorie des traces multiples.

➤ *Théorie standard de la consolidation systémique*

La première formulation théorique portant sur une implication temporaire de l'hippocampe dans le rappel des informations découle de la proposition de Marr en 1971, qui a été reprise au travers de la théorie standard de la consolidation. Celle-ci ramène directement au gradient temporel ayant été rapporté dans les amnésies liées aux atteintes de l'hippocampe (décrit pour la première fois par Ribot en 1881, qui observait déjà que dans les amnésies les souvenirs les plus anciens étaient les plus résistants). La théorie standard de la consolidation

(Alvarez & Squire, 1994 ; Squire & Alvarez, 1995 ; Frankland & Bontempi, 2005) part en effet du rôle de l'hippocampe dans la liaison et l'unification des informations traitées par différents modules corticaux au moment de l'encodage. L'intégrité de l'hippocampe serait une condition nécessaire, non seulement à la formation d'une représentation conjonctive, mais également à son maintien dans le temps proche. En effet, les modules corticaux impliqués au moment de l'encodage présenteraient une certaine indépendance fonctionnelle, l'hippocampe représentant le *locus* majeur d'une trace de leur co-activation. Les réactivations successives de l'hippocampe (durant le sommeil, Sil'Kis, 2010, comme durant l'éveil, Carr et al., 2011) permettraient un renforcement progressif des relations -si ce n'est la création de nouvelles connexions- cortico-corticales desdits modules impliqués dans l'encodage. A terme, ces réseaux neuronaux corticaux suffisamment renforcés sous-tendraient le rappel de l'information, et ce indépendamment de l'hippocampe. Un point important à préciser renvoie au fait que l'information, « migrant » ainsi d'un système centré autour de l'hippocampe vers un système essentiellement néocortical, est considérée comme étant redistribuée sans subir de modification qualitative. Dans ce modèle, la représentation configurale est considérée comme intacte au terme du processus de consolidation. De plus, ce modèle s'inscrit dans la lignée d'une conception unitaire de la mémoire de type déclarative et vise à rendre compte indifféremment de déficits en mémoire épisodique et sémantique.



**Figure 4** : Représentation schématique de la théorie standard de la consolidation systémique (adapté de Frankland & Bontempi, 2005).

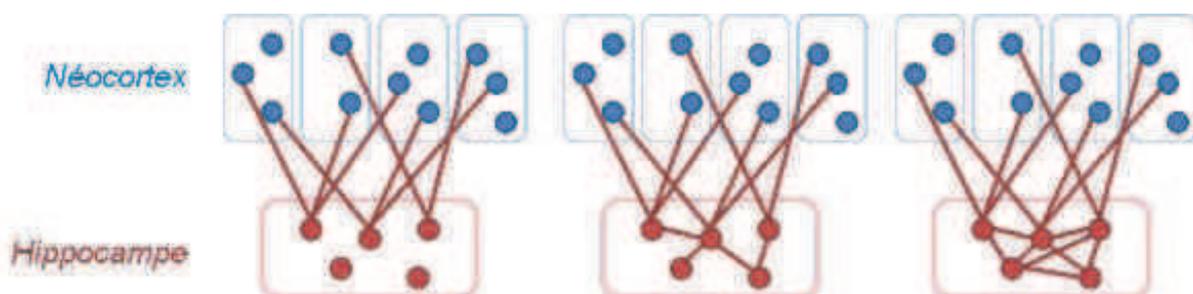
Si cette théorie a été formulée pour répondre à l'observation d'un gradient temporel des amnésies liées aux dommages de l'hippocampe (Scoville & Milner, 1957 ; Corkin, 1984 ; Reed & Squire, 1998 ; Bayley et al., 2003 ; Kirwan et al., 2008), elle a également bénéficié d'un soutien important des données issues de l'expérimentation animale chez le rongeur. Ainsi, différentes approches ont confirmé l'existence d'un gradient temporel suite à des lésions de l'hippocampe et ce, dans différentes tâches comportementales (par exemple Winocur, 1990 ; Kim & Fanselow 1992, ; Anagnostaras et al., 1999 ; Winocur et al., 2001 ; Ross &

Eichenbaum, 2006 ; Ramos, 2009). Des techniques de traçage de l'activité neuronale (marquage métabolique au 2-DésoxyGlucose, marquage de gènes précoces immédiats...) tout en démontrant ce désengagement de l'hippocampe dans le rappel de souvenirs anciens (Bontempi et al., 1999 ; Hall et al., 2001 ; Gusev et al., 2005 ; Frankland et al., 2004 ; Maviel et al., 2004) ont par ailleurs mis en évidence une augmentation de l'activité du cortex préfrontal médian, particulièrement du cortex cingulaire antérieur, à ces mêmes délais (Bontempi et al., 1999 ; Frankland et al., 2004 ; Maviel et al., 2004). Plus récemment, Restivo et ses collaborateurs (2009) ont également révélé une telle dynamique concernant la densité d'épines dendritiques présentes dans l'hippocampe et le cortex cingulaire antérieur, démontrant que des mécanismes de plasticité synaptique structurelle semblent accompagner cette redistribution des réseaux sous-tendant le rappel de l'information. Ainsi, l'hypothèse d'un transfert du rôle sous-tendu à court terme par l'hippocampe vers, à long terme, le cortex préfrontal médian (particulièrement le cortex cingulaire antérieur) est apparue comme un complément majeur à la théorie standard de la consolidation (Frankland & Bontempi, 2005). Ainsi, la consolidation systémique aboutirait à un désengagement de l'hippocampe dans le rappel de l'information, le cortex préfrontal médian devenant le principal acteur du rappel de l'information, par sa réactivation des modules corticaux, corollaire à son inhibition de l'activité hippocampique (évitant ainsi un ré-encodage d'une information connue).

➤ *Théorie des traces multiples / de la transformation*

Néanmoins, les études cherchant à valider le modèle standard de la consolidation ont apporté un certain nombre de résultats contradictoires. Notamment, et comme mentionné précédemment, l'étude de cas cliniques a soulevé la difficulté de ce modèle à expliquer des cas de dissociations fonctionnelles entre mémoires sémantique et épisodique chez des patients présentant des lésions du lobe temporal médian (Vargha-Khadem et al., 1997 ; Gadian et al., 2000). De plus, un certain nombre d'amnésies non temporellement graduées ont été rapportées dans la littérature (Barr et al., 1990 ; Kartsounis et al., 1995 ; Cipolotti et al., 2001 ; Moscovitch et al., 2006 ; Rosenbaum et al., 2008). Le réexamen des techniques d'évaluation de la mémoire épisodique a ainsi amené à la formulation de l'une des principales critiques envers le modèle standard. Par exemple, la reconnaissance des visages de notoriété publique, telle qu'elle a été observée chez HM, pourrait être attribuable à une connaissance sémantique

plutôt qu'épisodique (un individu étant rarement capable de se rappeler dans quelles circonstances il a vu pour la première fois le visage d'un homme politique, par exemple). Ceci a amené certains auteurs à une réévaluation du modèle standard de la consolidation. La théorie des traces multiples a donc été proposée par Nadel et Moscovitch en 1997 (voir aussi Nadel et al., 2000 ; Moscovitch et al., 2006) en tant qu'alternative, prenant directement en compte une dissociation entre mémoires épisodique et sémantique. Selon ce modèle, si l'hippocampe est impliqué dans l'encodage d'un souvenir de type épisodique, ses réactivations y sont associées à une conséquence radicalement opposée : elles n'aboutiraient pas à un désengagement de l'hippocampe, mais bien au contraire à la multiplication des traces du souvenir qu'il sous-tend (du fait d'un ré-encodage de l'information réactivée). De fait, le gradient temporel des amnésies s'expliquerait par une plus grande résistance des souvenirs anciens aux dommages du lobe temporal médian lorsqu'une lésion de l'hippocampe n'est que partielle, ces souvenirs y étant sur-représentés. Ce modèle a lui aussi bénéficié d'une assise expérimentale provenant des études d'imagerie cérébrale chez l'Homme (Maguire et al., 2001 ; Ryan et al., 2001 ; Nadel et al., 2007 ; Viard et al., 2010). Chez l'animal, une absence de gradient dans l'amnésie rétrograde a pu être démontrée dans des tests de mémoire spatiale (Sutherland et al., 2001 ; Clark et al., 2005 ; Martin et al., 2005), comme non-spatiale (Lehmann et al., 2007 ; Sutherland et al., 2008).



**Figure 5** : Représentation schématique de la théorie des traces multiples (adapté de Frankland & Bontempi, 2005).

Plus récemment, une extension de cette théorie des traces multiples a été proposée par Winocur et ses collaborateurs (2010), mettant l'accent sur la transformation, la sémantisation (schématisation chez l'animal) des souvenirs liée aux interactions hippocampo-corticales. Ainsi, si l'hippocampe multipliait les traces du souvenir avec sa répétition, cette dernière aboutirait à une extraction des régularités par le néocortex, avec formation d'une seconde

représentation qualitativement différente et indépendante de l'hippocampe. De fait, ils proposent une distinction entre des souvenirs épisodiques riches en détails et dépendants de l'hippocampe, et des connaissances sémantiques décontextualisées et dépendantes du néocortex, pouvant tous deux être simultanément disponibles dans le système nerveux central tout en étant rappelés de manière indépendante l'un de l'autre (expliquant de fait la variabilité observée dans le gradient temporel des amnésies rétrogrades liées aux lésions de l'hippocampe). Ainsi, des études d'imagerie cérébrale ont pu mettre en évidence une réduction de l'activité hippocampique dans une tâche de rappel sémantique en fonction de l'ancienneté de l'information à rappeler (Moscovitch et al., 2006 ; Nadel et al., 2007 ; mais Piolino et al., 2004). Concernant les données obtenues chez l'animal confortant ce point de vue, une contribution majeure est venue des études portant sur la généralisation de la peur conditionnée au contexte qui sera discutée ultérieurement.

## II. Mémoire de type épisodique: le modèle de la peur conditionnée au contexte en expérimentation animale

Comme mentionné dans la partie précédente, si les modèles de la consolidation systémique ont d'abord été développés sur la base de données issues de la neuropsychologie clinique, un certain nombre de données expérimentales venues participer à l'évaluation de ces modèles a été offerte par des études chez l'animal. En effet, un avantage majeur de l'expérimentation animale consiste en l'opportunité de standardisation des lésions cérébrales à l'étude et donc, de l'affranchissement d'un facteur de variabilité important chez l'être humain. Ainsi, plusieurs tâches ont été utilisées chez le rongeur pour interroger l'implication temporaire de l'hippocampe dans la consolidation systémique, parmi lesquelles des tâches de navigation spatiale ou des tâches non-spatiales telles que la préférence alimentaire socialement transmise ou le conditionnement de peur au contexte. Ce dernier type de tâche représente un intérêt particulier dans l'étude de la consolidation, dans la mesure où, de manière similaire aux données obtenues chez l'être humain, il fait l'objet de résultats contradictoires quant à l'existence d'un gradient temporel de l'amnésie rétrograde. Depuis, l'évaluation de la peur au contexte a été proposée comme un modèle potentiel d'une mémoire de type épisodique (qui ne saurait être interrogée directement chez des animaux ne disposant pas de langage), du fait d'un certain nombre de points de ressemblance.

Après avoir abordé la manière dont se met en place le conditionnement de peur au contexte ainsi que l'analogie existant entre la représentation d'un contexte et une représentation en mémoire épisodique, nous aborderons les structures cérébrales classiquement impliquées dans l'acquisition et le rappel de ce type d'apprentissage.

### 1. Peur conditionnée au contexte chez le Rat : lois et modèles

Le conditionnement répondant (ou Pavlovien), initialement décrit par Pavlov en 1927, est un apprentissage associatif reposant sur le lien unissant un stimulus inconditionné (SI, pertinent pour l'organisme de manière innée) et la réponse inconditionnée correspondante (reflexe ou émotionnelle). Lorsqu'un stimulus *a priori* neutre précède systématiquement

l'exposition au SI, il prend valeur de stimulus conditionné (SC). L'exposition à ce stimulus devient capable d'induire une réponse dite conditionnée, même en l'absence du SI pertinent. Les réponses conditionnées de peur sont généralement obtenues, en expérimentation animale chez le rongeur, par l'association d'un son avec l'administration d'un choc électrique auquel l'animal ne peut se soustraire.

Ce type d'apprentissage, s'il a d'abord été décrit pour des SC discrets (phasiques), peut également être observé dans des situations où aucun stimulus discret ne prédit l'arrivée du SI : dans ce cas, il y a mise en place d'un conditionnement à la situation dans laquelle se trouve l'organisme (environnements physique comme interne), ce que l'on appelle conditionnement au contexte. Ainsi, lorsque réexposé au contexte dans lequel les stimuli aversifs ont été délivrés, l'animal va présenter des réponses de peur dites conditionnées, se manifestant notamment sur un plan comportemental par l'expression d'un comportement défensif stéréotypé, le comportement de *freezing* (défini comme une immobilité totale de l'animal exceptés les mouvements nécessaires à sa respiration, Blanchard & Blanchard, 1969 ; Fanselow, 1984 ; LeDoux et al., 1986). Ce type d'apprentissage, très conservé au cours de l'évolution, est également tenu pour être très robuste au cours du temps. Les animaux conditionnés dans un contexte particulier présentent des réponses de peur même lorsqu'un délai de plusieurs semaines sépare l'apprentissage de la réexposition (Kim & Fanselow, 1992 ; Anagnostaras et al., 1999 ; Houston et al., 1999 ; Burwell et al., 2004).

Plus particulièrement, dans des situations où le contexte est le seul prédicteur du SI, ou qu'un stimulus discret est systématiquement découplé de l'arrivée du SI (auquel cas il prend le statut d'inhibiteur conditionné, ou signal de sécurité), on parle de conditionnement au contexte en avant-plan. Cependant, le fait qu'un SC phasique permettant d'anticiper le SI soit présent n'empêche pas la mise en place d'un conditionnement de peur au contexte. En effet, dans ces situations, si c'est le SC qui acquiert le plus fort contrôle sur les réponses de peur exprimées ultérieurement par les animaux, le contexte reste capable d'induire une réponse conditionnée, bien que son contrôle des réponses de peur soit moindre que s'il avait été le seul élément présent au cours du conditionnement : on parle alors de conditionnement au contexte en arrière-plan (d'un conditionnement au SC).

Cette distinction dans le statut que peut revêtir le contexte suite à un conditionnement est classiquement expliquée en termes de mise en compétition des signaux présents dans leur association au SI (Rescorla & Wagner, 1972 ; Pearce & Hall, 1980 ; Desmedt et al., 1999).

Cette mise en compétition d'un SC et du contexte, si elle est entendue par l'ensemble des théories du conditionnement pavlovien, est néanmoins expliquée de manière divergente par ces modèles, certains insistant sur son rôle dans l'acquisition de la peur conditionnée, d'autres sur sa prise de contrôle au moment de l'expression de cette peur.

Les modèles centrés sur l'acquisition suivent directement les observations de Pavlov, qui déjà au début du siècle dernier dégagait trois principales lois d'établissement du conditionnement : la contiguïté, l'intensité et la fréquence. La notion de contiguïté fait référence à la proximité temporelle et spatiale entre un stimulus inconditionné et un stimulus neutre pour qu'il y ait mise en place d'un apprentissage. La loi d'intensité stipule que des stimuli plus intenses (plus saillants ou plus pertinents) feront l'objet d'une association plus forte. La fréquence enfin renvoie au nombre de répétitions de l'association entre ces stimuli, une répétition étant nécessaire à l'apprentissage. Plus récemment, Rescorla et Wagner (1972) ont proposé un amendement vis-à-vis de cette dernière loi proposée par Pavlov, à travers leur formulation d'un modèle mathématique simple permettant de rendre compte de la dynamique d'apprentissage de l'association SC-SI lors de la séance de conditionnement. En effet, pour eux, l'aspect déterminant ne serait non pas le nombre absolu d'associations auxquelles est exposé l'animal, mais plutôt la probabilité qu'un SI soit précédé d'un SC : cette probabilité renvoie à la notion de contingence (Rescorla, 1968 ; Rescorla & Wagner, 1972 ; Wagner & Rescorla, 1972). Plus particulièrement, dans une condition dite de contingence dégradée, où tous les SI ne sont pas associés au SC (voire aucun), on observe une augmentation de la réponse conditionnée au contexte au détriment de celle à un stimulus phasique (Rescorla, 1968). Ce conditionnement au contexte en avant-plan serait lié au fait que le contexte soit le seul élément physique systématiquement contigu à l'arrivée du choc, qu'il soit plus saillant que la trace du SC (absent) lors de l'arrivée du SI et/ou que le SI n'apparaisse pas en dehors de ce contexte.

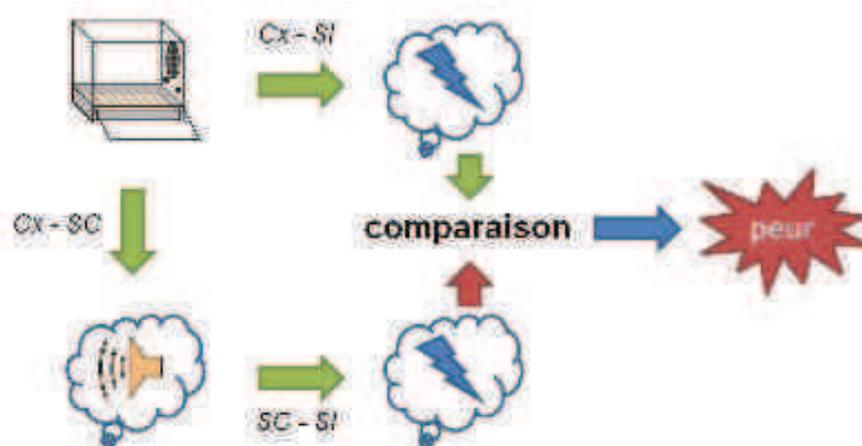
Le modèle de Rescorla et Wagner est articulé autour d'une proposition centrale, rendant compte de la force associative supplémentaire acquise par un stimulus conditionné à un essai donné :  $\Delta VX^{n+1} = \alpha X \beta (\lambda - V^n_{\text{total}})$ .

Où  $\Delta VX^{n+1}$  correspond à la modification de la force associative d'un stimulus conditionné X lors d'un essai supplémentaire, qui est fonction de sa saillance ( $\alpha X$ , loi d'intensité appliquée au SC/contexte), de la capacité du SI à être associé ( $\beta$ , loi d'intensité appliquée au SI), mais

aussi de la différence entre la charge associative maximale que peut sous-tendre le SI ( $\lambda$ , définissant l'asymptote des réponses conditionnées pouvant être obtenues) et la force associative déjà allouée à différents éléments de la situation expérimentale, y compris le SC/contexte en question ( $V^n$ total). Dans ce cadre, le contexte est assimilé à un stimulus.

Ce modèle explique ainsi la peur conditionnée au contexte (notamment en arrière-plan) par des phénomènes de masquage : dans une situation où deux stimuli sont associés au SI, la force associative maximale acquise par chacun de ces stimuli est inférieure à celle qui leur aurait été allouée s'ils avaient été présentés seuls (Kamin 1969 ; Mackintosh 1976 ; Pavlov 1927). En effet, la présentation conjointe de ces deux stimuli amène à une augmentation du terme  $V^n$ total (les deux stimuli acquérant une valeur associative dès le premier essai), et donc une réduction de la force associative qu'acquerront chacun des stimuli aux essais suivants. Les statuts prédictifs du contexte et d'un SC discret étant inégaux (et différents en fonction de la contingence SC-SI), on constatera d'essai en essai que l'un de ces stimuli supportera une force associative plus élevée que l'autre. Ainsi, quand un son prédit l'arrivée du choc, il « absorberait » la plus grande partie de la charge associative maximale du SI : on parle alors de masquage du contexte, qui est alors conditionné en arrière-plan. Inversement, dans une situation de contingence dégradée, le statut associatif faible acquis par le SC discret amènerait à l'attribution au contexte d'une charge associative plus élevée, d'où conditionnement en avant-plan de celui-ci.

D'autres modèles explicatifs du conditionnement de peur sont axés non pas sur l'acquisition d'une force associative, mais sur la prise de contrôle par chacun de ces stimuli au moment de l'expression de la peur. Parmi ces modèles figure l'hypothèse du comparateur (Miller & Matzel, 1988 ; Stout & Miller, 2007). Ce modèle expliquerait la différence entre des peurs conditionnées au contexte en avant ou en arrière-plan non pas en terme de compétition au moment du conditionnement entre les stimuli présents, mais par la formation d'associations indépendantes qui unissent l'ensemble des stimuli présents au moment du conditionnement : les associations du contexte et du SC au SI indépendantes l'une de l'autre d'une part, et l'association qui unit le SC au contexte indépendamment du SI d'autre part. Ce serait le rappel de ces trois associations au moment de la séance de réexposition, et la comparaison du SC et du contexte en résultant, qui amènerait à une compétition dans la prise de contrôle de l'expression de la peur par l'un ou l'autre de ces stimuli.



**Figure 6** : Représentation schématique de l'hypothèse du comparateur (Stout & Miller, 2007). Les flèches vertes indiquent une influence excitatrice, les flèches rouges une influence inhibitrice (Cx = contexte ; SI = stimulus inconditionné ; SC = stimulus conditionnel).

Ainsi, si ce modèle postule que le SC discret puisse être plus ou moins associé au SI au moment du conditionnement, il n'inclut pas de notion d'interférence ou de mise en compétition au moment de la distribution de la charge associative du SI entre le SC et le contexte. Le SC s'associerait en fonction des lois de fréquence, contingence, intensité et contiguïté, indépendamment de l'association au contexte. Selon ce modèle, c'est au moment de l'expression de la peur que l'interférence se mettrait en place, du fait d'une association entre le SC discret et le contexte (plus ou moins élevée proportionnellement au ratio temps d'exposition au SC / temps d'exposition total au contexte). La force de cette association serait source d'interférence au moment du rappel de la peur au contexte : l'exposition au contexte amènerait au recrutement de son association au SI, mais aussi de son association au SC. Cette association recruterait (de façon plus ou moins intense en fonction de sa force) à son tour l'association SC-SI. La comparaison de l'association SC-SI à l'association contexte-SI serait alors déterminante dans les niveaux de peur exprimée au contexte, la première ayant une fonction inhibitrice sur l'expression de la seconde. Aussi, plus l'association du SC devait s'avérer forte, plus la peur exprimée en réponse au contexte devrait être diminuée. Un tel modèle présente donc l'avantage d'expliquer comment une peur conditionnée à un contexte en avant-plan est plus importante, à temps d'exposition et intervalle de temps entre les chocs équivalents, quand un SC ne prédit pas l'arrivée d'un choc électrique (comparateur faible), sans avoir à présupposer que ces patrons d'expression relèvent d'associations perturbées au

moment du conditionnement. Nous noterons par ailleurs que ce modèle a été étendu pour rendre compte d'un certain nombre de phénomènes d'interférence liés au conditionnement de peur, et pas uniquement d'interférences entre un SC et un contexte (par exemple Urcelay & Miller, 2006 ; Wheeler & Miller, 2008 ; McConnell et al., 2010).

En définitive, bien que différentes théories s'opposent sur le moment où une mise en compétition aurait lieu, toutes s'accordent néanmoins à dissocier le lien entre le contexte et l'expression d'une réponse conditionnée en fonction de la force associative lui étant attribuée, les niveaux de peur évoqués par le contexte étant différents selon que celui-ci est conditionné en avant-plan ou en arrière-plan. Or, nous noterons que dans l'utilisation de la peur conditionnée au contexte dans le cadre des études sur la consolidation systémique, ce sont moins les mécanismes associatifs de conditionnement (renvoyant au fonctionnement d'une mémoire procédurale) que la nature-même de la représentation du contexte qui a inspiré un intérêt particulier pour ce type de tâche. En effet, de nombreuses études ont suggéré que la représentation contextuelle, qui sous-tend un tel apprentissage, se définit par sa capacité à intégrer les relations entre les éléments qui composent le contexte en une représentation configurale, ce qui a justifié son utilisation en tant que modèle de la mémoire épisodique.

## 2. La représentation d'un contexte comme modèle de mémoire épisodique

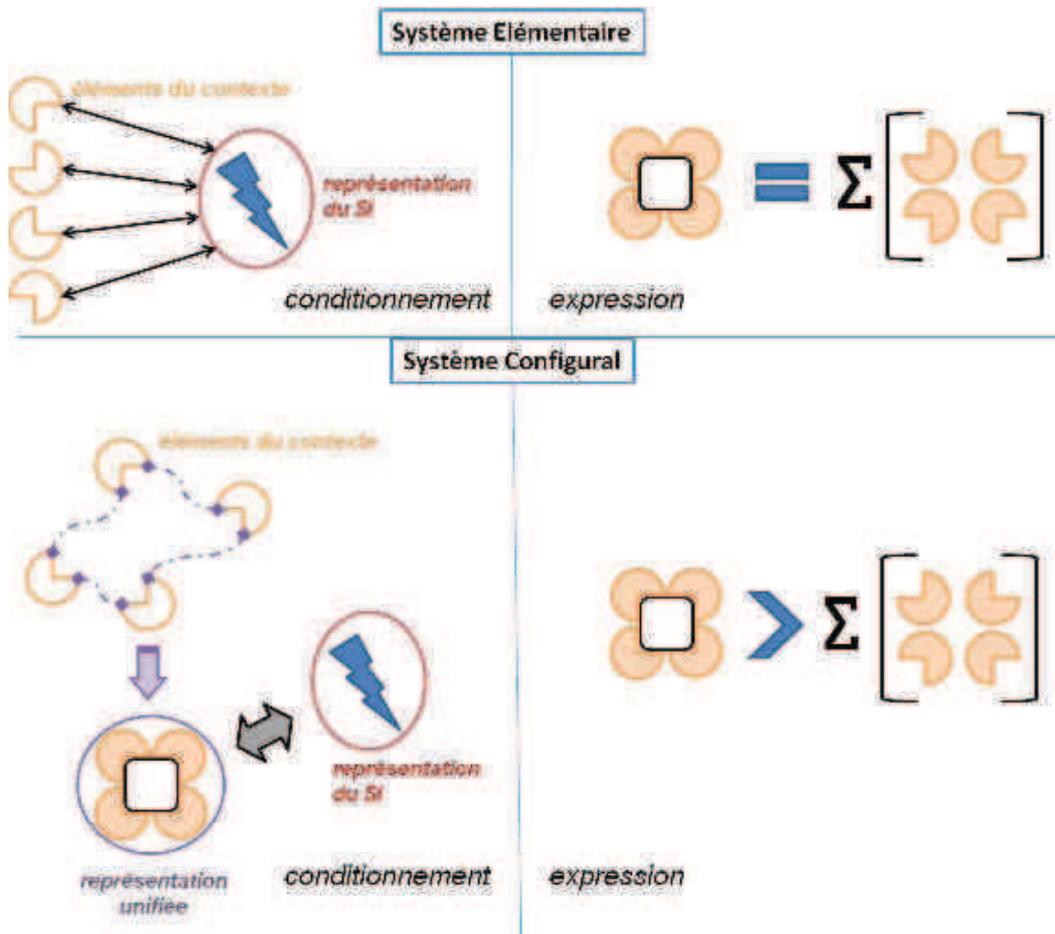
La peur conditionnée au contexte a ainsi été proposée comme modèle d'étude de la mémoire épisodique sur la base de plusieurs critères, le plus important d'un point de vue théorique consistant en l'analogie qu'elle trouve avec ce type de mémoire dans la forme de représentation qui semble la sous-tendre. Ainsi, un grand nombre de travaux ont mis en évidence que l'acquisition d'une peur conditionnée au contexte repose, chez l'animal intact, sur un traitement conjonctif des informations de l'environnement dépendant de l'hippocampe, de manière similaire à la formation de souvenirs en mémoire épisodique chez l'être humain (par exemple Pickens & Holland, 2004). L'un des arguments majeurs d'une telle conception provient des études de Fanselow (1986, 1990) sur le déficit de choc immédiat. En effet, les animaux recevant un choc électrique immédiatement après leur placement dans une boîte de conditionnement ne présentent pas de peur à ce contexte ultérieurement. Cependant, si une séance d'exploration du contexte de conditionnement précède la séance d'administration du

choc et qu'un temps de remémoration suffisant leur est laissé (plus de 27 sec) avant le choc, les animaux sont bien conditionnés. Un tel effet de facilitation de la pré-exposition au contexte a été retrouvé et caractérisé par la suite : les animaux ne bénéficient de cette pré-exposition que si elle comporte l'ensemble des éléments constitutifs du contexte, mais pas si ces éléments sont préalablement présentés de manière séparée (Rudy & O'Reilly, 1999). De fait, ce bénéfice a été attribué à la réactivation d'une représentation configurale du contexte formée lors de la pré-exposition (Fanselow, 2000 ; Rudy et al., 2004), l'hippocampe semblant impliqué tant dans la consolidation de cette représentation que dans sa réactivation (Rudy et al., 2002 ; Matus-Amat et al., 2004 ; Stote & Fanselow, 2004 ; Matus-Amat et al., 2007 ; Rudy, 2009 ; Schiffino et al., 2011).

Des études antérieures à ces derniers travaux, portant sur l'amnésie antérograde de la peur au contexte induite par la lésion de l'hippocampe avant le conditionnement, ont révélé des résultats contradictoires : si certains auteurs ont observé un déficit d'apprentissage après de telles lésions (Phillips & Ledoux, 1992 ; Kim et al., 1993 ; Rudy, 1993 ; Young et al., 1994 ; Maren & Fanselow, 1997), d'autres auteurs n'ont pas reproduit ces résultats (Phillips & Ledoux, 1994 ; Maren et al., 1997 ; Frankland et al., 1998). L'hypothèse, formulée initialement par Nadel et ses collaborateurs (Nadel & Willner, 1980), de l'existence de deux systèmes indépendants pouvant sous-tendre une représentation du contexte et entrant en compétition au moment de l'association de celui-ci a alors été reconsidérée pour expliquer ces résultats (Anagnostaras et al., 2001 ; O'Reilly & Rudy, 2001 ; Rudy & Matus-Amat, 2005 ; Rudy, 2009) :

- ♣ Un système de représentation configurale sous-tendu par l'hippocampe et dans lequel les différents éléments du contexte sont associés en une représentation dite unifiée, s'associant au stimulus aversif lors du conditionnement.
- ♣ Un système élémentaire, basé sur un traitement extra-hippocampique des éléments du contexte sans prise en compte des relations les unissant et amenant à un conditionnement de chacun de ces éléments. La peur au contexte exprimée par des animaux présentant une lésion de l'hippocampe avant le conditionnement dépendrait alors de la somme des associations effectuées à chacun de ces éléments, ce qui expliquerait les résultats contradictoires obtenus.

Ainsi, il a été proposé que le système hippocampique soit premier sollicité et qu'il inhibe en temps normal les associations élémentaires portées par le système extra-hippocampique, chez l'animal intact. Une telle inhibition semblerait mettre en jeu des projections du subiculum ventral/CA1 vers le noyau basolatéral de l'amygdale (Biedenkapp & Rudy, 2009). Notons que plus récemment, il a été proposé que ce soit plus largement la région parahippocampique qui sous-tendrait de telles représentations configurales (Fanselow, 2009).



**Figure 7** : Représentation schématique des deux systèmes pouvant sous-tendre la représentation du contexte au cours d'un conditionnement (à gauche). A droite figurent les prédictions liées à chacun de ces systèmes sur l'expression d'un peur conditionnée au contexte comparée à ses éléments constitutifs (adapté de Anagnostaras et al., 2001).

En définitive, ajouté au fait que l'encodage du contexte, chez l'animal intact, implique la mise en relation d'un ensemble de stimuli présents dans son environnement pour la formation d'une représentation unifiée en mémoire, le fait que cette représentation puisse se forger à travers une expérience unique (le conditionnement de peur au contexte pouvant être

établi après une seule séance d'acquisition), ont amené à une acceptation consensuelle de la peur conditionnée au contexte comme modèle d'étude, chez l'animal, des souvenirs de type épisodique (contextualisés). Si jusqu'à présent nous avons focalisé notre attention sur le rôle de la formation hippocampique dans la formation d'une telle représentation configurale, nous noterons qu'elle est loin d'être la seule impliquée dans l'expression de la peur conditionnée.

### 3. Substrats neurobiologiques de la peur conditionnée au contexte

Au delà des zones cérébrales impliquées dans le traitement des seules informations contextuelles, la peur conditionnée au contexte implique un large réseau neuronal, incluant des structures impliquées dans des mécanismes associatifs en lien avec le conditionnement, mais aussi de régulation des émotions.

Si l'acquisition et l'expression de la peur conditionnée mettent en jeu un circuit cérébral très étendu, du traitement des informations perceptives jusqu'à la production de différentes manifestations de la peur, nous limiterons cependant ici leur description aux structures représentant l'objet d'intérêt de cette thèse (traitement cognitif et émotionnel dans le conditionnement). Dans un souci de clarté ne seront pas abordées les voies de traitement sensoriel impliquées, ainsi que les systèmes de neurotransmission régulant l'activité des ensembles ici décrits. Nous nous concentrerons donc sur les caractéristiques anatomo-fonctionnelles de trois ensembles structuraux : l'amygdale étendue (intégration de l'association et commande de la réponse), le cortex préfrontal médian (émotions et cognition) et la formation parahippocampique (traitements cognitifs et émotionnels). De même, les relations entre ces structures seront essentiellement décrites au regard des circuits impliqués dans l'expression de la peur conditionnée.

#### 3.1. *Amygdale étendue*

Si la représentation d'un contexte peut être rapprochée d'un traitement de type épisodique chez l'être humain, les mécanismes par lesquels cette représentation est associée au SI renvoient à des apprentissages de type procédural qui sont basés sur la répétition d'associations. Ainsi, la recherche d'un *locus* cérébral pour la mise en place de telles associations a, elle aussi, fait l'objet de multiples investigations. Actuellement, il y a

consensus pour considérer que les noyaux amygdaliens, situés eux aussi dans le lobe temporal, sont particulièrement critiques dans l'acquisition et la mémorisation des associations entre stimuli neutres (y compris le contexte) et stimuli aversifs (dans le cas du conditionnement de peur : LeDoux, 1996 ; Davis, 1997 ; Fendt & Fanselow, 1999). Plus particulièrement, on considère que les différents noyaux de l'amygdale, notamment les noyaux latéral, basolatéral et central, sous-tendent différentes facettes du conditionnement.

Le noyau latéral (LA) serait le lieu de convergence des informations auditives d'un SC discret et du SI. Les informations suivraient deux voies parallèles : une voie directe en provenance des noyaux thalamiques (Doron & LeDoux, 2000a et 2000b ; Linke et al., 2000) et une voie indirecte impliquant un traitement cortical (Mascagni et al., 1993 ; Romanski & LeDoux, 1993 ; Shi & Cassell, 1997). Les voies véhiculant les informations sur le SC et le SI y convergeraient vers les mêmes neurones (LeDoux et al., 1991 ; Li et al., 1996). La co-occurrence de l'activation des neurones du noyau latéral par ces entrées amènerait à la mise en place de mécanismes plastiques tenus pour sous-tendre la mémorisation de l'association (Maren, 2001 ; Ferreira et al., 2008). Ceci est suggéré par des expériences *in vivo* d'enregistrement cellulaires de potentiels évoqués par un SC (Quirk et al., 1995 ; Rogan et al., 1997 ; Collins & Pare, 2000) comme de lésions ou d'inactivations fonctionnelles (Muller et al., 1997 ; Amorapanth et al., 2000 ; Nader et al., 2001 ; Calandreau et al., 2005).

Le noyau basolatéral de l'amygdale (BLA) serait quant à lui plus particulièrement impliqué dans la peur conditionnée au contexte (Phillips & LeDoux, 1992). Ce noyau ferait l'objet des plus fortes afférences de l'amygdale en provenance de l'hippocampe (Pitkänen et al 2000 ; LeDoux, 2000 ; Sah et al., 2003) et a été proposé comme le relais possible des informations contextuelles en vue de leur association au SI (Maren et al., 1996 ; Phillips & LeDoux, 1992). En effet, son blocage pharmacologique amène à un déficit de conditionnement spécifique à la peur au contexte (Nader et al., 2001 ; Calandreau et al., 2005). De plus, la lésion de ce noyau entraîne un déficit dans l'expression de la peur conditionnée au contexte quel que soit le délai séparant la séance de conditionnement de la séance de test (jusqu'à 16 mois, Gale et al., 2004). Certaines données soulèvent également son importance dans l'acquisition d'une extinction de la peur, c'est-à-dire la réduction des réponses conditionnées suite à l'exposition à un SC en l'absence de SI (Herry et al., 2006 ; Sotres-Bayon et al., 2007). Ceci confirmerait un rôle général de ce noyau dans l'intégration des

informations contextuelles, l'extinction d'une peur conditionnée peut dépendre du contexte dans lequel elle a lieu (Bouton & Bolles, 1979; 2000). Par ailleurs, il a été suggéré que le noyau basolatéral de l'amygdale est capable de moduler l'activité hippocampique (Akirav & Richter-Lavin, 1999; 2006) pour réguler les mécanismes de consolidation de la mémoire (Bouton, 1999).

Les noyaux latéral et basolatéral de l'amygdale projettent des fibres vers le noyau central de l'amygdale (notamment sa portion médiale), qui constitue la structure «de sortie» du réseau amygdalien (Kinsey et al., 2006). Ces projections sont toutefois pas uniquement directes et excitatrices. En effet, des projections indirectes semblent impliquer les masses cellulaires intercalées du noyau latéral et basolatéral de l'amygdale, qui exercent des effets inhibiteurs sur le noyau central de l'amygdale (Royer et al., 1999; Quirk & Leiberich, 2000). Ces effets sont nécessaires à l'extinction de réponses de peur. En effet, les afférences du cortex infra-limbique (Vertes, 2004) semblent établir des mécanismes de plasticité entre le noyau basolatéral et les masses (Akirav & Richter-Lavin, 1999; 2006).

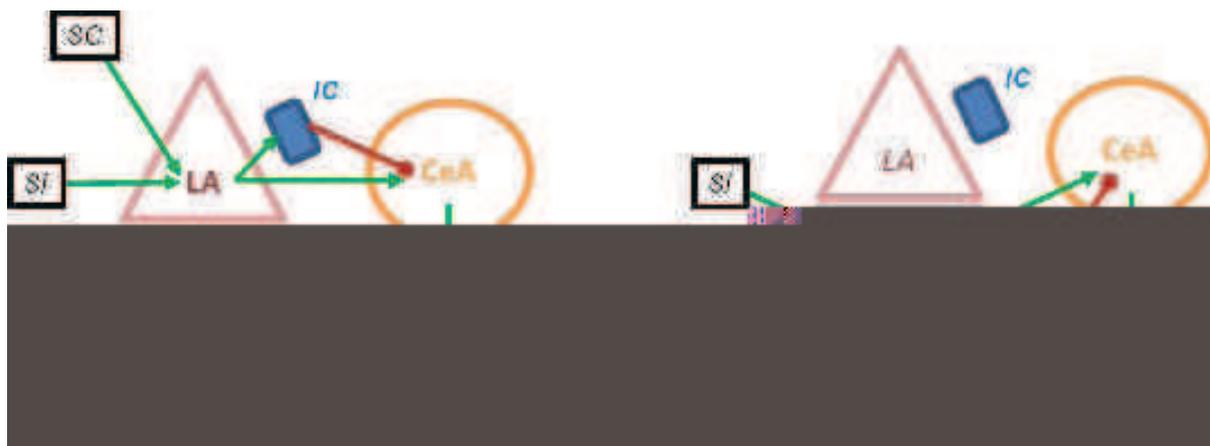


Figure 8 Représentation schématique de l'amygdale dans le conditionnement à un stimulus discret (gauche) et à un contexte (droite). Les flèches vertes des connexions excitatrices, les flèches rouges des connexions inhibitrices. SC = stimulus conditionnel, LA = noyau latéral de l'amygdale, CeA = noyau central de l'amygdale; IC = masses cellulaires intercalées; PAG = substance grise (periaqueducule).

Le noyau central (CeA) projette vers un ensemble de structures impliquées dans la mise en place de réponses de peur sur un plan viscéral (hypothalamus (noyau paraventriculaire de l'hypothalamus et hypothalamo-hypophysocortico-surrénalien) et comportemental (substance grise pédonculaire et noyau reticularis pontis et réflexe de sursaut, LeDoux, 1996; Fendt & Fanselow, 1999). En effet, les lésions descendantes provoquent des déficits dans l'expression de la peur (Kapp et al., 1989; Gehlert & Davis, 1986; Campeau & Davis 1995). Nous noterons toutefois que d'autres études ont véhiculé des informations portant sur le rôle de ce noyau, en particulier dans l'expression des réponses de peur, plusieurs auteurs ont démontré que le CeA véhicule des informations portant sur le rôle de ce noyau, en particulier dans l'acquisition de réponses conditionnées (Pare et al., 2004, Wilensky et al., 2006).

Le noyau du lit de la strie terminale (NST) constitue un plan embryologique, neurochimique et anatomique, comme un homologue de l'amygdale (Alheid, 1995), formant avec les noyaux amygdaliens par extension d'amygdale étendue. Plus particulièrement, ses subdivisions pourraient constituer une « extension » des circuits amygdaliens selon deux axes traversant le cerveau antérieur, unissant l'amygdale et le NST : un axe médian, unissant l'amygdale médiane et le NST médian, partageant de provenance notamment de l'aire de transition hippocampale, basale médiale postérieure, du subiculum ventral, du cortex entorhinal ventrolatéral antérieur, et un axe latéral, de l'amygdale latérale, recevant des projections du noyau basolatéral denté, du cortex insulaire somatosensoriel ainsi que du cortex prélimbique (Alheid, 2003). Ces analogies, ajoutées au fait que le NST constitue un grand nombre de structures efférentes (Walker et al., 2003), ont permis de mettre en évidence le rôle de ce noyau dans les réponses de peur, notamment conditionnées. Ainsi, son inactivation fonctionnelle - a été démontrée par l'absence de réponse conditionnée au contexte (Sullivan et al., 2004; Hackett et al., 2004 ;

Luyten et al., 2011a) sans affecter la peur au NST (Luyten et al., 2011a). Cette implication du NST dans l'expression de la peur au contexte a été démontrée par des études d'imagerie cérébrale chez le rongeur (Luyten et al., 2011a) et démontré comme impliqué dans des protocoles induisant un état d'anxiété, dont l'expression est plus tardive et plus étendue que celle d'un SC, comme ceci peut être mis en évidence par l'exemple du réflexe de sursaut induite par la lumière ou par des injections de Corticotrope, Lee & Davis, 1997; Walker & Davis, 1997). Par ailleurs, nos collaborateurs (2009), par une étude de sous-populations, ont montré que l'homogénéité des profils d'anxiété, exprimés normalement par les animaux, vers un profil de faible anxiété. Suite à un conditionnement des animaux les animaux présentent des niveaux de peur au contexte, le SC non conditionné et d'anxiété dans un labyrinthe à six secteurs-complète une population d'animaux intacts peu anxieux. Ajouté à cette structure, elle empêche la sensibilisation des réponses de poursuite mais pas aigu (Gewirtz et al., 1998), une implication du NST dans l'anxiété (réponse menace moins immédiate, Blanchard et al., 1993, 2003) par opposition dépendante de l'amygdale à émerger (Walker et al., 2003) qui ne serait donc impliquée dans l'expression de réponses émotionnelles, les implications afférences CRF-positives en provenance de l'amygdale (Walker & Davis, 2008; Walker et al., 2009). Par ailleurs, il a également été démontré que le NST contribue à l'acquisition et la consolidation d'un conditionnement de BA (conditionnement nécessitant néanmoins un nombre plus important d'associations mis en place), suggérant un rôle compensateur de cette structure (Walker & Davis, 2007; Poulos et al., 2010).

Enfin, le NST comme le noyau central de l'amygdale substantielle préoptique (PAG) ventrolatérale (De Oca et al., 1982; Walker & Carrive, 2003). Celle-ci est impliquée dans l'expression de la peur de freezing, les différentes colonnes de la PAG étant dédiées à des modules correspondant à la proximité de danger (Carrive, 1993; Carrive & Oliveira et al., 2004). Ainsi, la PAG dorsale est impliquée dans une réponse de fuite/combat (danger proche), tandis que la PAG ventrale

passif et défensif (danger plus distant / inchoatif & Brandão, 2003) (Vi Brandão et al., 2008).

### 3.2. Cortex Préfrontal médian

Comme mentionné précédemment, les structures du cortex préfrontal regroupant les cortex cingulaire, prélimbique et infra-limbique sont tenantes de la théorie standard de la consolidation comme rappel de l'information contextuelle ancienne (Frankland & Bontempi, 2005) et assurent des modules corticaux dispersés (sur l'implémentation de ces cortex dans le stockage long terme, voir Sacco & Sacchetti, 2009) et de cette hypothèse, plusieurs études ont démontré un effet adhésif de/ou un effet de l'activité par imagerie cérébrale/marquage immunogène d'opioïdes/comptondendritiques, notamment au niveau du cortex cingulaire et dans le cortex ancien dans des tâches initialement dépendantes de l'hippocampe (Bontempi, Frankland et al., 2004; Maviel et al., 2004; Texeira et al., 2006; Resler et al., 2006). Le manque de connexions directes entre le cortex préfrontal et l'hippocampe comme un obstacle à une simple «migration» de l'information si les connexions hippocampo-préfrontales en provenance de CA1 et de CA2 sont intactes est en évidence (Jay et al., 1996; Laroche et al., 2004), soulignant que certaines de celles-ci concernent au premier plan les cortex prélimbiques. Des données suggèrent que le cortex préfrontal médian pourrait être impliqué dans l'information, quel que soit le délai séparant le conditionnement de trace (type de conditionnement à entraînement à la tâche) (SI; Han et al., 2003; Blum et al., 2006, Guimarães et al., 2011). Une fonction mnésique au cortex préfrontal médian dans la tâche d'appel de sujet est en évidence. Caution: le lobe préfrontal médian est en effet bien que ne présente pas un haut degré de connexions intrinsèques, (renvoyant aux cortex cingulaire, prélimbique et infra-limbique, Heidbreder & Groenewegen, 2004) 2004; et est impliquée dans un grand nombre de processus cognitifs également intervenant au cours d'un conditionnement.

Le cortex cingulaire antérieur est connecté à de nombreux systèmes nerveux central telles que l'amygdale, l'hypothalamus, le cortex de thalamus médiodorsal et les cortex sensoriels secondaires (Berendse & Groenewegen, 1991). De fait, il a été impliqué dans plusieurs fonctions, notamment le traitement de stimulations douloureuses (Johansen et al., 2001; Kundu et al., 2004). Cette implication dans le traitement de la douleur peut être faite car le cortex cingulaire antérieur est relié aux noyaux intralaminaires et de la ligne médiane du thalamus, des informations nociceptives en provenance de la substance grise (Berendse & Groenewegen, 1991; Groenewegen & Berendse, 1994). Price (2000) propose par exemple la notion de « voir à la douleur » en référence à la distribution par ces noyaux thalamiques d'informations émotionnelles d'un stimulus nocif au cerveau antérieur. Dans un cadre de conditionnement, la possibilité de conditionner un animal par une stimulation sonore a été démontrée (Tang et al., 2005; Frankland & Teicher, 2005), et tout comme on peut conditionner un son (Bissière et al., 2008), la possibilité de conditionner un stimulus (un ton) a été démontrée (Furlong et al., 2010). De plus, dans un protocole dissociant les contextes de stimulation au SI, le rôle de cette structure dans la consolidation au contexte semble concerner spécifiquement la phase d'acquisition, ce qui suggère que le cortex cingulaire antérieur soit impliqué dans la consolidation au SI (Malin & McGaugh, 2005). L'ensemble de ces données suggère que le cortex cingulaire antérieur est impliqué dans un traitement émotionnel de haut niveau de SI, caractérisé par un stimulus aversif de ce SI tout en intégrant les règles d'apparition de ce stimulus.

Par ailleurs, le cortex cingulaire antérieur semble être impliqué dans l'inhibition des informations non pertinentes dans des tâches de conditionnement comme opérant (Bussey et al., 1997; Cardinal et al., 2007). De fait, il a été observé chez des animaux lors de telles tâches que la suppression de la réponse de désinhibition comportementale générale, ceux-ci ne sont pas de répondre dans une tâche évaluant ces réponses (Christakou, 2001; 1996), ce qui suggère un rôle dans des mécanismes attentionnels. Dans le cadre de la consolidation, un tel rôle dans les processus attentionnels a été proposé par Rudy et ses collaborateurs (2005), qui relève la confusion entre la nouveauté et

la facilité avec laquelle il peut être rappelé. Selon un autre rapport antérieur lors du rappel de souvenirs anciens, les ressources attentionnelles visant à compenser la difficulté de lien avec une dégradation de la trace mnésique. Cependant, les données décrites sur l'implication de cette structure dans les mécanismes pourraient avancer une interprétation alternative de ces résultats. Les données de mécanismes de résistance à l'interférence (l'interférence de destination) liée au passage du temps, mis en place pour faciliter le rappel de l'information, nécessitent de dégradation du souvenir.

Enfin, une implication du cortex cingulaire antérieur dans les traits temporelles (spatiales comme comportementales) (Saksida & Bussey, 1995; Delatour & Gisquet-Verrier, 2001) et formalisée dans le processus mnésiques sous-tendus par le cortex préfrontal médian (Kesner (2000) fonction pourrait expliquer son implication dans le conditionnement de modèle, Kesner propose que les cortex sous-jacents (prélimbique et infralimbique) permettent, quant à eux, le traitement hiérarchique des informations classifiées en fonction de leur dimension.

Les cortex prélimbique et infralimbique ont respectivement été trouvés pendant des mécanismes attentionnels, notamment des changements de référence sont par exemple incapables de passer d'une référence spatiale (utilisation d'une carte cognitive allocentrique) à une référence directionnelle (égocentrique) dans différents tests (Debruin et al., 1994; 1999; Aggleton, 1997) incapacité à changer de modalité de référence dans la réponse à une tâche apparaît cohérent avec le rôle de ces deux zones (Kesner (2000) ces deux structures, tout en permettant de rendre compte de certains comportements après la lésion du cortex prélimbique (Chudasama & Muir, 2001).

Le rôle de ces deux zones corticales dans le conditionnement est particulièrement détaillé dans la littérature, en particulier dans des mécanismes émotionnels. Ainsi, toutes deux semblent réguler les réponses de peur, par exemple, en réponse à des informations contradictoires : excitatrice pour le prélimbique, inhibitrice concernant l'infralimbique, comme il est suggéré

électrophysiologiques (Gilmartin & McEchron, 2005; Vidal-Gonzalez et al., 2006). Ainsi, l'inhibition du cortex prélimbique induit une réduction des réponses conditionnées, tandis que sa stimulation les augmente (Vidal-Gonzalez et al., 2007; Torres-Bayon & Quirk, 2010). Il a également été démontré que les récepteurs aux glucocorticoïdes dans cette région sont impliqués dans la consolidation d'un évitement passif équivalent à celui d'une injection dans l'amygdale, cet effet ne soit pas observé lorsque cette dernière est lésée (Rockwell et al., 2009). Cet effet bénéfique est apparu tant pour la représentation du danger de la douleur que la l'association au choc électrique. Par ailleurs, une corrélation positive de peur et l'activité prélimbique a été récemment mise en évidence (Bjork et al., 2009). Ces auteurs suggèrent que son rôle serait de transformer des informations hippocampiques et corticales, un signal amygdalien plus soutenue en plus soutenue. Le cortex infra-limbique a été rapproché de ces idées, car il pourrait être entendu comme changement de stratégie apprenant du danger (Morgan et al., 1993). Son activité est le rappel de la fonction d'extinction et sa stimulation réduit la peur conditionnée un son (Milad, & Quirk, 2004). De plus, sa lésion perturbe le rappel de l'extinction de la peur (Quirk et al., 2000; Morgan et al., 2003), déficitaire apparente de la peur dans un contexte (Morgan et al., 2003). Un tel rôle dans l'extinction d'une peur est également été démontré pour un contexte en avant-plan, sans interférence avec l'acquisition, la consolidation et le rappel de l'extinction (Laurent & Westbrook, 2009). Une fonction du cortex infra-limbique en termes de traitement des informations contextuelles externes et internes de la peur peut alors se comprendre au regard des connexions avec l'amygdale, la formation hippocampique ainsi que des noyaux impliqués dans les commandes motrices (Terreberry & Neafsey, 1983; Hurley et al., 1991).

**Figure 9** : Représentation schématique des interactions des cortex prélimbique et infralimbique avec la formation hippocampique et l'amygdale permettant de rendre compte de leurs implications dans la régulation des réponses de peur (adapté de Sierra-Mercado et al., 2011). Les flèches vertes indiquent des connexions excitatrices, les flèches rouges des connexions inhibitrices (HPv = hippocampe ventral ; PrL = cortex prélimbique ; IL = cortex infralimbique ; IC = masses cellulaires intercalées ; BLA = noyau basolatéral de l'amygdale ; CeA = noyau central de l'amygdale).

Cette régulation en directions opposées de ces deux zones corticales a par ailleurs été récemment confirmée par une étude d'inactivation de ces structures, celle du cortex prélimbique aboutissant à une réduction des réponses de peur à un son, sans affecter le souvenir d'une extinction, tandis que celle de l'infralimbique entraîne une augmentation des réponses de peur à un son ainsi qu'un déficit d'extinction (Sierra-Mercado et al., 2011 ; voir figure du modèle proposé). Une telle dissociation fonctionnelle s'étaye par ailleurs sur des arguments neuro-anatomiques liés aux connexions divergentes de ces structures avec les noyaux amygdaliens : tandis que le cortex prélimbique projette sur le noyau basolatéral de l'amygdale, les efférences du cortex infra- limbique concerneraient les noyaux GABAergiques du noyau central latéral de l'amygdale ainsi que les masses cellulaires intercalées de l'amygdale, projetant tous deux vers l'amygdale centrale médiane pour en diminuer l'activité (Vertes, 2004 ; Gabbott et al., 2005).

### *3.3. Formation hippocampique*

Si l'organisation et le rôle de la formation hippocampique dans la construction de représentations contextuelles/configurales ont été détaillés précédemment, il convient de souligner qu'ils ne représentent qu'une partie des circuits centrés autour de l'hippocampe, circuits différents mis en jeu dans des fonctions cognitives multiples sous-tendues par le lobe temporal médian. Ainsi, le modèle le plus récent détaillant cette hétérogénéité anatomo-fonctionnelle autour de la région para-hippocampique est proposé par Aggleton (2012), qui

distingue, sur la base de données obtenues en expérimentation animale comme chez l'humain, quatre composantes distinctes du lobe temporal médian, concernant à la fois des processus mnésiques différents et des processus émotionnels.

Le premier sous-ensemble concerne l'hippocampe au sens strict ainsi que ses connexions avec les corps mamillaires, le cortex cingulaire postérieur (retrosplénial) et les noyaux du thalamus antérieur (Aggleton & Brown 1999). Ce système sous-tendrait la mémoire de type épisodique, comme le suggèrent notamment les amnésies antérogrades liées à des sections du fornix (Gaffan & Gaffan, 1991 ; McMackin et al., 1995).

Le deuxième sous-système implique les connexions réciproques entre l'hippocampe et le cortex parahippocampique. Ce système aurait pour fonction une comparaison des informations sensorielles présentes traitées par ce cortex (objets -cortex périrhinal- comme contexte -cortex postrhinal-, convergeant vers le cortex entorhinal) aux informations en mémoire, c'est-à-dire une fonction de détection de la familiarité et de « guidage » du traitement hippocampique des informations (encodage de la nouveauté ou rappel d'une information reconnue). Ainsi, le cortex parahippocampique serait impliqué dans la reconnaissance (familiarité, voir plus bas), et guiderait le recrutement et le type de traitement de l'information par l'hippocampe en fonction du degré de cohérence entre les informations sensorielles présentes et l'expérience passée. Par exemple, Albasser et ses collaborateurs (2010) ont démontré chez le Rat, par une approche corrélative, une dissociation entre les projections de la voie perforante du cortex entorhinal en fonction de la familiarité/nouveauté : la boucle polysynaptique serait sollicitée pour l'encodage d'une situation nouvelle, tandis que les projections directes entorhino-CA1 sous-tendraient la remémoration de l'information reconnue. Une telle dissociation dans la connectivité entre l'hippocampe et le cortex entorhinal a déjà été proposée par Poirier et ses collaborateurs (2008), et s'inscrit dans la continuité des études portant sur une dissociation fonctionnelle des sous-champs de l'hippocampe dans les mécanismes d'encodage, consolidation et rappel de l'information (Garcia et al., 1998 ; Lee & Kesner, 2004 ; Remondes & Schuman, 2004 ; Daumas et al., 2005 ; Vago et al., 2007 ; Ji & Maren, 2008 ; pour revues Rolls, 2010).

Un troisième circuit, en amont, a trait aux relations entre le cortex parahippocampique et le cortex préfrontal, interaction qui sous-tendrait la reconnaissance/familiarité. Aussi, ces interactions concerneraient la stratégie de traitement de l'information mise en place lors d'une reconnaissance effective par le cortex parahippocampique. Notons que cette familiarité est

classiquement distinguée de la remémoration d'une information précise et contextualisée et se caractérise par un degré de certitude moins important (le rapport bonnes réponses/fausses alarmes suit une fonction curvilinéaire symétrique et non asymétrique ; pour revue Eichenbaum et al., 2007 ; Eichenbaum et al., 2009). S'il a été proposé que cette distinction renvoie à une différence dans la vivacité du souvenir de l'information à reconnaître, soit une différence quantitative (Squire et al., 2007), certaines données appuient bien une différence qualitative entre reconnaissance et rappel (Easton et al., 2009). En effet, une lésion de l'hippocampe, mais pas du cortex environnant, amène à une réduction des réponses basées sur la remémoration au profit de réponses basées sur la familiarité. Le cortex préfrontal, quant à lui, ne projette pas directement sur l'hippocampe, mais est fortement interconnecté avec le cortex parahippocampique. C'est pourquoi il a été proposé que les interactions entre ces zones corticales, lorsqu'observées en imagerie cérébrale, renvoient au traitement de la stratégie de rappel (Rugg & Wilding, 2000 ; Simons & Spiers, 2003 chez l'être humain ; Rudy et al., 2005 chez le Rat).

Le dernier sous-système renvoie à l'implication de l'hippocampe dans les traitements émotionnels, qui consiste en la première des fonctions ayant été historiquement attribuée à l'hippocampe par Papez (1937, circuit de Papez plus tard élargi à la notion de système limbique). Cette implication dans l'expression des émotions a été confirmée par les perturbations émotionnelles provoquées par résection temporale chez le singe (Klüver & Bucy, 1937) et reprise plus récemment par Gray et McNaughton (2000). L'hippocampe serait ainsi impliqué dans l'expression d'émotions à valence négative, telles que l'anxiété. De manière cohérente avec cette hypothèse, l'hippocampe a un rôle majeur dans la régulation de l'axe hypothalamo-hypophyso-corticosurrénalien (Jacobson & Sapolsky, 1991, Dedovic et al., 2009). Depuis cette proposition initiale d'une implication de l'hippocampe dans les traitements émotionnels, un ensemble convergent de données a apporté un degré de précision supplémentaire à ce rôle, qui semblerait dépendre plus particulièrement de la partie rostrale de l'hippocampe (chez l'être humain, équivalente à la partie ventrale/temporale de l'hippocampe du Rat), qui seule présente des projections directes vers les structures du système limbique impliquées dans le traitement des émotions (amygdale, cortex préfrontal médian, noyau accumbens ; Swanson & Cowan, 1977 ; Naber & Witter, 1998). En effet, des lésions chez le Rat de la portion ventrale de l'hippocampe affectent les réponses au stress et les comportements émotionnels (Henke, 1990 ; Kjelstrup et al., 2002) sans affecter la mémoire

spatiale (Moser et al., 1995 ; Pothuisen et al., 2004). Dans le cadre du conditionnement de peur, il a été observé une perturbation de la peur à un son (généralement décrite comme indépendante de l'hippocampe dorsal) suite à des lésions ou inactivations de cette structure (Maren & Holt, 2004 ; Hunsaker & Kesner, 2008). Cependant, Rudy et Matus-Amat (2005) ont mis en évidence une implication de cette structure dans la consolidation d'une représentation contextuelle avant-même son conditionnement, bien que leur délimitation de l'hippocampe ventral ait présenté une aire plus étendue dorsalement que les études n'ayant pas montré une telle implication de l'hippocampe ventral dans le traitement du contexte. Or, si des cellules de lieu y ont été décrites, à l'instar de l'hippocampe dorsal, leur champ d'activité est bien plus étendu (Kjelstrup et al., 2008), ce qui apparaîtrait cohérent avec un traitement émotionnel d'un contexte élargi (et non d'une position particulière dans l'environnement). Ainsi, une distinction fonctionnelle entre pôles dorsal et ventral est généralement admise, la partie intermédiaire de l'hippocampe ayant été proposée comme une zone d'intégration progressive de traitements émotionnels aux informations spatiales (Bast, 2007 ; Bast et al., 2009), notion de transition qui pourrait trouver un substrat potentiel avec l'hypothèse d'un traitement sériel et « en spirale » des informations le long de l'hippocampe, selon un sens dorso-ventral, à travers des boucles récurrentes entorhino-hippocampiques (Vorobyov & Brown, 2008).

En conclusion, un bref aperçu des structures cérébrales impliquées dans l'expression de la peur conditionnée au contexte met en exergue la difficulté à attribuer à ses trois ensembles constitutifs une implication exclusive dans le traitement des informations contextuelles. En effet, loin de se limiter à ce seul traitement mnésique d'informations de type épisodiques, le réseau sous-tendant le contrôle des réponses de peur par le contexte présente dans sa quasi-totalité un rôle dans des traitements associatifs (mémoire procédurale) et/ou émotionnels qui sont constitutifs de la mise en place de tels comportements, rendant d'autant plus délicate une interprétation directe de déficits comportementaux dans cette tâche comme relevant d'un seul déficit lié à la représentation du contexte. C'est pourquoi nous aborderons maintenant les principaux apports de la peur conditionnée au contexte aux théories de la consolidation, avant de soulever la problématique des mécanismes émotionnels pouvant amener à une modification de la réponse comportementale, indépendamment de perturbations portant sur le souvenir du contexte.

### III. Peur conditionnée au contexte et mécanismes de consolidation : aspects mnémoniques de type épisodique, associatif et émotionnel à long terme lors d'une expérience aversive

#### 1. La peur conditionnée au contexte : argument récurrent dans les théories de la consolidation

Comme nous l'avons vu précédemment, l'intérêt de la peur conditionnée au contexte en tant que modèle d'une mémoire de type épisodique a amené à son utilisation dans l'étude de la distribution des réseaux neuronaux sous-tendant le rappel d'une information ancienne, plus particulièrement dans l'investigation d'un rôle potentiellement temporaire de l'hippocampe dans la remémoration. Ainsi, elle a été utilisée parmi d'autres tâches mnémoniques chez le rongeur et, ce faisant, a rendu compte de résultats proches de ceux obtenus chez l'être humain, car contradictoires. En effet, alors que dans d'autres tâches, chez le rongeur, les lésions de l'hippocampe provoquent des gradients temporels reproduits de manière consistante (les tests de navigation spatiale présentent une absence de gradient temporel d'amnésie rétrograde, Bolhuis et al., 1994 ; Sutherland et al., 2001 ; Clark et al., 2005 ; Martin et al., 2005 ; la reconnaissance olfactive présente un gradient consistant et rapide, Winocur, 1990 ; Winocur et al., 2001 ; Clark et al., 2002 ; Ross & Eichenbaum, 2006), la peur conditionnée au contexte fait l'objet de résultats plus variables, démontrant tantôt un gradient temporel d'amnésie rétrograde (Kim & Fanselow, 1992 ; Anagnostaras et al., 1999 ; Maren et al., 1997 ; Frankland et al., 2006 ; Winocur et al., 2009 ; Wang et al., 2009), tantôt une amnésie rétrograde indépendante du délai séparant le conditionnement de la lésion (Lehmann et al., 2007 ; Winocur et al., 2007 ; Sutherland et al., 2008 ; Lehmann et al., 2009). Il est notable que dans ces dernières conditions où le souvenir du contexte ne semble pas devenir indépendant de l'hippocampe, l'implication du cortex préfrontal médian n'ait pas été interrogée.

Parmi les facteurs explicatifs à ces résultats divergents, Sutherland (2010) avance l'étendue de la lésion hippocampique comme principal prédicteur du succès à mettre en évidence un gradient. Ainsi, si les lésions amenant à un gradient temporel sont généralement restreintes à la portion la plus dorsale de l'hippocampe (<40%), une absence de gradient temporel serait observée dans des situations où la lésion de l'hippocampe recouvre un

ensemble plus large. Si cette observation représente en soi un argument majeur en faveur de la théorie des traces multiples (Nadel & Moscovitch, 1997 ; Moscovitch et al., 2005), prédisant que la résistance à la lésion hippocampe de souvenirs anciens serait proportionnelle à leur sur-représentation au niveau de l'hippocampe (et donc à l'étendue de sa résection), d'autres explications alternatives ont été avancées pour expliquer les cas de figure d'amnésie rétrograde temporellement graduée : une dégradation de la trace liée au passage du temps (oubli ou perte en détails de la représentation), une difficulté d'accès accrue à cette trace corollaire à sa dégradation, ou encore la transformation de cette trace.

Rudy & Wright-Hardesty (2005) ont démontré qu'une pré-exposition plus longue au contexte de conditionnement amène à l'expression d'une peur plus élevée, et ce de manière plus stable dans le temps. Dans un autre article paru la même année, Rudy et ses collaborateurs (2005) proposent d'interpréter ces résultats au regard d'une dégradation potentielle de la trace. En effet, une telle perte en précision du souvenir a été observée dans une tâche de préférence de place alimentaire (Maviel et al., 2004), ce qui a amené Rudy à reconsidérer le rôle du cortex préfrontal médian dans le rappel du souvenir ancien en tant que système de compensation (voir plus haut). En 2007, Rudy a alors proposé en tant qu'assise majeure à son hypothèse une série d'expériences sur la généralisation de la peur conditionnée au contexte, observant qu'une pré-exposition au contexte de conditionnement (tenue pour renforcer la trace du contexte) permet de réduire la peur généralisée à un contexte différent, tandis que la peur conditionnée au contexte de conditionnement semble demeurer à des niveaux intacts et élevés. La généralisation renvoie au fait que lorsqu'un test de la peur au contexte est effectué peu de temps après le conditionnement, elle s'exprime de manière plus intense dans ce contexte, tandis que lorsque le souvenir est ancien (deux à quatre semaines selon les études), d'autres contextes deviennent capables d'induire des réponses de peur équivalentes. Il est notable que cette généralisation, interprétée en tant que dégradation de la représentation du contexte initialement par Riccio et ses collaborateurs (1992), ait été observée à de nombreuses reprises (Houston et al., 1999 ; Balogh et al., 2002 ; Biendenkapp & Rudy, 2007 ; Wiltgen & Silva, 2007). Cependant, il a été suggéré que cette généralisation pourrait suivre une fonction en U-inversé au cours du temps, un test de la peur conditionnée au contexte passé un délai plus important (60 jours) ayant été rapporté comme associé à une peur à nouveau discriminante (Balogh et al., 2002). Nous noterons toutefois que l'hypothèse

de Rudy s'inscrit dans le cadre des premières études sur la consolidation systémique du conditionnement de peur au contexte, dominé à ce moment-là par la théorie standard de la consolidation (indépendance à l'hippocampe du rappel de représentations anciennes, à ces mêmes délais présentant un degré de généralisation élevé). Or, la généralisation de la peur conditionnée et son interprétation en termes de perte en détails de la représentation du contexte, a été reprise dans la version étendue de la théorie des traces multiples, à savoir l'hypothèse de la transformation de la trace mnésique. Ainsi, pour ces auteurs, si l'hippocampe reste impliqué dans le rappel de souvenirs de type épisodiques, riches en détails contextuels (Winocur et al., 2010), la généralisation viendrait marquer l'existence d'une seconde trace, schématisée (de type sémantique). En effet, selon cette théorie, la consolidation amènerait à la coexistence de deux traces du contexte en mémoire : une trace détaillée dépendante de l'hippocampe et une seconde, plus générale, correspondant au processus d'extraction sémantique, sous-tendue par des réseaux corticaux. Cette interprétation s'appuie sur les observations d'une peur non discriminante consécutivement à une lésion de l'hippocampe à délai court (Winocur et al., 2007), de l'association entre la spécificité des réponses de peur et leur dépendance à l'intégrité de l'hippocampe quel que soit le délai (Winocur et al., 2009), de sous-populations d'animaux présentant un haut degré de généralisation à délai court sans recrutement de l'hippocampe (Wiltgen et al., 2010), et de gradients de généralisation plus élevés suite à une résection de l'hippocampe avant l'apprentissage (mise en place d'un conditionnement élémentaire hippocampo-indépendant, Moses et al., 2007). Néanmoins, certaines données suggèrent que la généralisation puisse être indépendante de l'incapacité à rappeler une représentation dépendante de l'hippocampe. En effet, la réduction du gradient de généralisation suite à l'exposition répétée au contexte de conditionnement, représentant le premier argument en faveur de l'hypothèse de la dégradation de la trace, semble être sous-tendue par des réseaux extra-hippocampiques. Dans ce type de situation, les animaux ne présentent pas de généralisation, même après résection de l'hippocampe (Wang et al., 2009 ; Lehmann et al., 2009), ce qui irait en faveur d'une représentation extra-corticale tout aussi détaillée que celle sous-tendue par l'hippocampe (théorie standard de la consolidation).

Ces contradictions dans les liens unissant généralisation, souvenir et dépendance à l'hippocampe viennent soulever la difficulté d'interprétation de la généralisation à l'aune des théories de la consolidation. Ces modèles, en mettant l'accent sur une possible dégradation de la trace avec le temps telle que proposée par Riccio (1992), ne sauraient rendre compte de

l'ensemble des données de la littérature. Or, la peur conditionnée au contexte, comme sa généralisation, est un mécanisme complexe, mettant en jeu non seulement une composante mnésique de type épisodique sous-tendant le souvenir du contexte, mais aussi, comme nous l'avons vu précédemment, un ensemble de traitements associatifs liant cette représentation à une expression émotionnelle. Ainsi, il est pertinent de constater que les études démontrant une augmentation de la généralisation consécutivement aux lésions de l'hippocampe ont utilisé des lésions totales de cette structure, incluant sa portion la plus ventrale (Winocur et al., 2007 ; Moses et al., 2007 ; Winocur et al., 2009). De fait, une alternative non négligeable à l'interprétation de la généralisation de la peur conditionnée au contexte comme dégradation de la trace pourrait consister en une modification portant sur des mécanismes de traitement associatif et/ou de régulation des émotions. En effet, le conditionnement de peur est une expérience aversive pour l'animal, et un autre pan de la littérature, portant sur la caractérisation des mécanismes de l'anxiété, suggère qu'un ensemble de mécanismes plastiques se mettraient en place suite à l'administration de chocs électriques, mécanismes sous-tendus notamment par les apprentissages associatifs se mettant en place lors d'une telle expérience.

### *2. Effets comportementaux d'une expérience aversive : incubation et modèles d'anxiété*

L'un des arguments majeurs à la prise en compte de mécanismes émotionnels dans la mise en place d'une peur généralisée provient des mêmes études s'étant intéressées à la peur au contexte en tant que modèle de mémoire épisodique. En effet, une incubation des réponses de peur a pu être mise en évidence de manière récurrente (Houston et al., 1999 ; Balogh et al., 2002 ; Frankland et al., 2004). Cette incubation correspond à une augmentation des réponses de peur avec le temps, indépendamment du contexte dans lequel elles sont évaluées et pourrait représenter un tenant de la généralisation observée lors du rappel d'une peur conditionnée anciennement acquise. Dans ce cadre, il est intéressant de constater que la généralisation de la peur au contexte à délai court a déjà été décrite comme proportionnelle au caractère aversif de l'expérience initiale (intensité et nombre de chocs électriques) par Baldi et collaborateurs (2004), ce qui laisse suggérer qu'une modification à long terme au niveau du versant émotionnel du conditionnement, accompagnant sa consolidation, puisse amener à une généralisation de la peur conditionnée. Par ailleurs, un autre groupe s'étant intéressé au

nombre de chocs électriques n'a pas démontré d'augmentation proportionnelle de la peur au contexte de conditionnement (Luyten et al., 2011c), résultat interprété comme relevant d'un effet plafond. Mises en relation, ces données laissent à penser qu'une incubation pourrait, dans certains cas, se manifester par une augmentation de la peur ne se manifestant que dans un nouveau contexte, une peur déjà élevée au contexte de conditionnement pouvant ne pas être sensible à des modifications portant sur le traitement du caractère aversif de l'expérience initiale (mais voir Wiltgen & Silva, 2007).

Cependant, il convient de souligner que le comportement de *freezing* évalué dans ces études est un comportement typiquement exprimé par l'animal dans une situation où aucune opportunité de fuite ne lui est donnée (Bolles & Fanselow, 1980). Dans des situations permettant l'expression de comportements défensifs d'une autre nature (possibilité de fuite ou d'évitement), une incubation suite à l'administration de chocs électriques incontrôlables a été largement documentée, comme le montre un ensemble de données de la littérature portant sur la modélisation des troubles anxieux. Ainsi, de tels chocs induiraient un ensemble de modifications comportementales à court terme, notamment une réduction de l'activité locomotrice (par exemple Plaznik et al., 1988 ; Korte & De Boer, 2003). Ces modifications comportementales ont été décrites comme étant progressives dans leur instauration et durables jusqu'à près d'un mois (Van Dijken et al., 1992a ; Van den Berg et al., 1998 ; Korte & De Boer, 2003), tout en apparaissant spécifiques à l'expression de comportements d'anxiété, par opposition à une anhédonie, comportement de type dépressif (Van Dijken et al., 1992b). Il est à noter que les procédures utilisées dans ces manipulations, consistant en des chocs électriques non prédits par un SC discret, sont de nature à induire une peur conditionnée au contexte en avant-plan, quand bien même ce contexte est absent lors de l'évaluation des réponses d'anxiété. De manière cohérente avec une mise en place de mécanismes plastiques suite à une expérience aversive, quelle que soit sa nature, des modifications comportementales durables ont été observées suite à l'exposition à un prédateur (Adamec & Shallow, 1993) et des changements d'instauration progressive -à l'échelle de jours- dans la réponse hormonale de stress ont été démontrés suite à une contention (Marti et al., 2000). Plus récemment, la manière dont de telles modifications comportementales peuvent influencer l'expression d'une peur conditionnée a été évaluée de manière systématique dans un protocole de conditionnement à un son. Ainsi, Pickens et ses collaborateurs (2009a ; 2009b ; 2010) ont

établi un protocole instaurant cette incubation de manière reproductible (avec une peur à un et deux mois plus importante qu'à un ou 15 jours) et ont proposé parmi les facteurs-clés à son instauration l'extension des séances d'apprentissage (et du nombre d'appariements SC-SI) comme étant déterminante. Une telle incubation se manifestant également pour des SC de longue durée (6 min), ils proposent que leur préparation puisse modéliser des modifications portant à la fois sur la peur et l'anxiété, telles qu'observées dans le stress post-traumatique, où elles ne se mettent en place que de manière différée de l'événement traumatisant.

La peur conditionnée au contexte a été rapprochée d'un certain nombre de troubles anxieux chez l'être humain, entre autre de par son expression temporellement diffuse (n'étant pas liée à un stimulus discret et phasique, signal de menace imminente, son début et sa fin sont moins clairement délimités dans le temps). Outre un rapprochement avec le stress post-traumatique, elle a été récemment proposée comme modèle animal du trouble anxieux généralisé, répondant aux critères de validités théorique, d'aspect et prédictive (Luyten et al., 2011b). De plus, les patients atteints de ce trouble semblent présenter des gradients de généralisation aberrants, étant déficitaires dans l'acquisition d'un signal de sécurité (SC systématiquement découplé du SI), déficit potentiellement attribuable à un dysfonctionnement du cortex préfrontal de ces sujets, impliqué dans de tels apprentissages inhibiteurs (Lissek et al., 2008 ; Lissek, 2012). Or, un certain nombre de données obtenues chez l'animal suggère que l'incubation des réponses anxieuses mentionnée plus tôt est tributaire de la mise en place d'un conditionnement au contexte, quand bien même elle ne s'exprimerait pas dans celui-ci : un choc immédiat de même intensité par exemple et n'induisant pas de conditionnement au contexte, ne provoque pas de modifications comportementales à court comme à long terme (Radulovic et al., 1998 ; Daviu et al., 2010 ; Pamplona et al., 2011 ; Sauerhöfer et al., 2012). Ceci viendrait conforter l'hypothèse du rôle majeur de mécanismes associatifs dans l'étiologie de troubles liés à la régulation des émotions, telle qu'elle semble émerger dans la littérature sur l'anxiété pathologique.

Toutefois, si cette mise en place d'un conditionnement comme condition *sine qua non* à une anxiété exacerbée semble faire l'objet d'un consensus, l'expression de la peur conditionnée peut être comprise comme la résultante des interactions de deux composantes, dont l'implication respective dans ces modifications est encore mal définie : une composante associative renvoyant à la force avec laquelle le contexte (ou un SC) est associé au SI (aspect

procédural de la tâche, traitement cognitif en amont commandant la réponse émotionnelle) et une composante non-associative liée au degré d'aversion sous-tendu par ce SI (soit les aspects plus directement émotionnels de la réponse). Par exemple, Rau et ses collaborateurs (2005) ont observé une facilitation du conditionnement lorsqu'un choc électrique le précède. Cet effet n'étant pas explicable par les théories associatives qui prédisent une interférence liée à cette pré-exposition au SI, il semble renvoyer à des mécanismes de sensibilisation non-associative des traitements émotionnels. Une telle distinction entre ces deux composantes a été formalisée par Kamprath et Wotjak (2004), qui proposaient initialement que lors de l'expression de la peur conditionnée à un son, la composante associative aurait un rôle catégorique (binaire, en tout-ou-rien) dans la commande de l'expression d'une réponse de peur, tandis que la composante non-associative serait responsable de l'ampleur de cette réponse (amplification graduée du signal). Une version révisée de ce modèle (Riebe & Wotjak, 2011) propose quant à elle que l'aspect catégoriel de la commande soit liée à une appréciation cognitive (explicite chez l'être humain) de la reconnaissance du signal (que l'on pourrait rapprocher de la reconnaissance d'un contexte chez le Rat), la composante graduée de la réponse de peur étant commandée à la fois par le degré d'association au SI de cette représentation reconnue comme dangereuse et le système non-associatif (renvoyant tous deux aux aspects implicites/procéduraux du conditionnement).

De manière intéressante ce modèle théorique prédit donc que des modifications (notamment des augmentations) de l'amplitude des réponses de peur mesurées soient principalement liées à des modifications dans les traitements procéduraux (associatifs) ou émotionnels qui sous-tendent l'expression de la peur. Or, une généralisation de la peur conditionnée, déjà présente à délai court mais s'exprimant de manière plus importante à délai long, est classiquement interprétée, dans la littérature portant sur les processus de rappel d'une information de type épisodique, comme révélatrice de la qualité de la représentation de type « déclarative ». Ce modèle prédirait pourtant qu'une telle dégradation, ou un oubli, se manifesterait plutôt par une abolition de l'expression de la peur, du fait de l'absence de déclenchement d'une cascade associative, elle-même recrutée par la reconnaissance ou le rappel du contexte. De fait, il ouvre à l'hypothèse d'une implication particulière des mécanismes plus « en aval » du traitement de l'information contextuelle, une peur d'ampleur plus importante pouvant se rapporter à une modification de la régulation de l'association entre le contexte de conditionnement et le SI (autrement dit une incapacité à prendre en compte

l'absence de prédiction du SI par un contexte reconnu comme nouveau pour réguler la réponse émotionnelle, type d'inhibition déficitaire chez les patients présentant un trouble anxieux généralisé) et / ou par une sensibilisation des réponses de peur (hypervigilance des patients traumatisés).

Si certaines données issues de modèles animaux de stress post-traumatique vont dans le sens d'une sensibilisation non-associative (Sigmund & Wotjak, 2007a et b ; Golub et al., 2009 ; Costanzi et al., 2011), ces manipulations ne sauraient cependant être directement transposables à une interprétation de l'incubation dans les expériences de conditionnement. En effet, ces manipulations ont généralement utilisé des chocs électriques d'intensité plus importante que celles utilisées classiquement pour mettre en place une peur au contexte. Néanmoins, il est pertinent de constater que, dans ces études, l'administration du choc n'est pas prédite par un son, configuration à même d'induire un conditionnement au contexte en avant-plan. Or, Pickens et ses collaborateurs (2009b) proposent que dans le cas d'un conditionnement à un son, l'opportunité de mise en place d'une incubation, se manifestant au travers de réponses de peur à des stimuli différant de celui ayant été conditionné, repose entre autres sur le degré d'exposition des animaux, suggérant une interprétation de cette incubation comme reposant sur des mécanismes associatifs. En effet, selon ces auteurs, ce serait un surentraînement qui provoquerait une réduction temporaire des réponses de peur, par un mécanisme inhibiteur qui serait « levé » avec le passage du temps (mécanisme de type *spontaneous recovery*, décrit dans la littérature comme un phénomène associatif reposant sur un changement du contexte temporel de l'information rappelée ; Rosas & Bouton, 1998 ; Brooks & Bouton, 1993, 1994). Aussi, il serait envisageable que la mise en place et la dynamique d'expression d'une incubation, suite à un conditionnement utilisant des chocs auxquels l'animal ne peut pas échapper, puissent différer en fonction de la prédictibilité de ce choc par un stimulus discret au moment du conditionnement, et donc du statut associatif du contexte. Un conditionnement en avant-plan, situation de relative imprédictibilité du choc tenue pour s'exprimer par des réponses émotionnelles plus diffuses dans le temps (renvoyant à l'anxiété), pourrait induire des modifications non-associatives et/ou associatives, tandis que le conditionnement à un contexte en arrière-plan (d'une réponse de peur à un son, prédictibilité du choc) induirait des mécanismes plastiques d'ordre principalement associatif.

En définitive, un ensemble convergent de données vient appuyer le rôle que peuvent jouer des mécanismes associatifs (renvoyant à un fonctionnement mnémonique de type procédural) et émotionnels nécessaires au conditionnement dans la mise en place de réponses généralisées à un ensemble de situations. De fait, elles viennent apporter quelque nuance à une vision de la généralisation comme révélatrice d'une représentation contextuelle dépourvue en détails, ce qui a été avancé comme l'un des arguments-clés permettant de résoudre le débat sur le devenir d'un souvenir de type épisodique au cours de sa consolidation. Or, la représentation du contexte, l'élément « épisodique » de ce type de test et sa reconnaissance ne sont que les éléments les plus « en amont » dans le traitement de l'information amenant à l'expression d'une réponse de peur conditionnée, les étapes de traitement plus « en aval » ayant été souvent ignorées dans cette littérature. Pourtant, elles pourraient représenter un mécanisme par lequel la performance des animaux viendrait à être dissociée du souvenir qu'elle vise à évaluer.

## OBJECTIFS DE LA THESE

Nos travaux visent à rapprocher les conclusions tirées de deux pans de la littérature en neurosciences comportementales qui rendent compte de la dynamique d'expression de réponses de peur conditionnées, en se focalisant principalement soit sur les mécanismes de rappel d'une information mnémonique de type épisodique, soit sur les processus impliqués dans le traitement des émotions.

D'une part, ils s'inscrivent dans la continuité des travaux portant sur la consolidation systémique et la distribution des réseaux neuronaux qui sous-tendent l'expression de la peur conditionnée au contexte selon son ancienneté. Notamment, ils visent à interroger l'implication de l'hippocampe dans le rappel d'une information configurale (de type épisodique) ancienne, et à explorer d'éventuelles divergences dans le substrat neurobiologique impliqué dans l'expression des réponses généralisées, par opposition à celles exprimées dans le contexte de conditionnement. Les théories dominantes posent en effet que la généralisation de la peur au contexte soit liée à un désengagement de l'hippocampe, que celui-ci soit associé à une dégradation de la trace ou à la sollicitation d'une seconde représentation mnésique qualitativement différente (reposant sur un autre système de mémoire) et dépourvue de détails. Dans les deux cas, ces modèles postulent une similarité dans les circuits neuronaux qui sous-tendent l'expression des peurs spécifique et généralisée, question demeurée en suspens au moment de cette thèse.

D'autre part, ils visent à intégrer à ces données les connaissances issues de la littérature sur les réponses d'anxiété. En effet, si une incubation des réponses de peur a été plusieurs fois rapportée dans les expériences de conditionnement de peur au contexte, son degré d'interaction avec les réponses comportementales des animaux n'a pas été évalué. Or, nous proposons que cette incubation, présente dans notre situation expérimentale, puisse être un tenant non négligeable de la généralisation des réponses de peur. De fait, nous avons cherché à caractériser plus avant ses conditions d'émergence, le caractère associatif de son expression et son influence sur l'expression de la peur au contexte, une peur spécifique au contexte de conditionnement (par extension un souvenir détaillé du contexte) pouvant être masquée par cette exacerbation des réponses de peur et d'anxiété.



# Contribution Expérimentale

## **CHAPITRE 1 : Substrat neurobiologique impliqué dans l'expression de la peur conditionnée au contexte**

### **EXPERIENCE PRINCIPALE**

#### 1. *Introduction*

Le premier objectif de cette thèse a consisté en la caractérisation des réseaux neuronaux sous-tendant l'expression de la peur conditionnée au contexte, en fonction de son ancienneté et de sa spécificité. En effet, au moment de nos premiers travaux, si l'étude de la peur conditionnée au contexte avait bien fait l'objet d'une caractérisation neuro-anatomique extensive par le biais d'études lésionnelles ou d'inactivations fonctionnelles, peu d'études d'imagerie chez l'animal intact avaient été entreprises. Or, ce dernier type d'études offre un avantage considérable pour qui souhaite étudier un réseau élargi de manière dynamique, puisqu'il permet de rendre compte du degré de connectivité entre un grand nombre de structures, par le biais de méthodes corrélatives appliquées au degré d'activité des structures qui composent ce réseau. De plus, ce type d'approche permet d'éviter la mise en place de systèmes de compensation, que ceux-ci soient d'ordres anatomique (mise en place de systèmes de compensation cérébraux suite à des lésions) ou fonctionnel (recours à une stratégie de traitement de l'information silencieuse chez l'animal intact, telle que le conditionnement à l'ensemble des éléments discrets du contexte en lieu et place d'une représentation configurale lorsque l'hippocampe n'est pas fonctionnel). Si les techniques d'imagerie présentent le double avantage de permettre l'accès au degré de corrélation entre les structures composant un circuit fonctionnel en temps normal (par rapport à des expériences lésionnelles) tout en incluant un champ vaste de structures à l'étude (par rapport à des données électrophysiologiques), les quelques études y ayant eu recours ont principalement visé à caractériser les réseaux sous-tendant la peur conditionnée exprimée dans le contexte de conditionnement (Frankland et al., 2004), et ne se sont que peu intéressées au patron d'activations cérébrales sous-tendant l'expression d'une peur à un contexte différent (mais

voir Wiltgen et al., 2010). Or, poser la généralisation de la peur conditionnée au contexte comme corollaire à la sollicitation d'une trace indépendante de l'hippocampe et appauvrie en détails repose sur l'hypothèse implicite d'un recouvrement des circuits qui sous-tendent l'expression de la peur au contexte de conditionnement et de la peur généralisée lorsque la trace est ancienne. Au contraire, si l'on considère que la généralisation, lorsqu'elle est observée, puisse ne pas être l'expression exclusivement d'une perte en détails ou d'une transformation de la trace, mais aussi d'un mécanisme d'incubation ne dépendant pas directement de la qualité de la représentation du contexte, la comparaison du degré de similitude des réseaux qui sous-tendent cette dernière se pose de manière plus prégnante encore. En ce cas, il est envisageable qu'un recouvrement ne soit que partiel. C'est pourquoi nous avons cherché, dans cette première étude, à caractériser les réseaux neuronaux sous-tendant l'expression de la peur conditionnée selon que celle-ci soit différenciée en fonction de son ancienneté, mais aussi en fonction du contexte dans lequel elle est exprimée.

Ce faisant, nous nous sommes naturellement intéressés aux patrons d'activation de la formation (para)hippocampique. Comme mentionné plus haut, la place qui lui est accordée dans le rappel d'une représentation contextuelle a fait l'objet de riches débats. Notamment, en complément des études utilisant une approche lésionnelle (Kim & Fanselow, 1992 ; Maren et al., 1997 ; Anagnostaras et al., 1999), certains auteurs, en comparant l'induction de gènes précoces immédiats d'animaux conditionnés à celle présentée par des témoins non-choqués, ont observé une réduction relative de l'activité cérébrale dans cette structure lorsqu'un délai long sépare la séance de conditionnement de la séance de test au contexte (Hall et al., 2001 ; Frankland et al., 2004). Cette activation moins importante a été interprétée comme marquant un désengagement de l'hippocampe dans le souvenir du contexte ancien. Cette absence d'implication de l'hippocampe à délai long a été démontrée aux délais où une généralisation des réponses de peur a été décrite, amenant à une interprétation de cette dernière en termes de modifications quantitative ou qualitative de la représentation du contexte, dont le niveau de détails serait tributaire d'un engagement suffisant du lobe temporal médian. Or, certains auteurs ont suggéré que l'absence de discrimination entre les niveaux de peur exprimés dans le contexte de conditionnement et un nouveau contexte puisse n'être que transitoire, interrogeant de fait la dynamique d'implication de la formation hippocampique à ces délais ultérieurs (Balogh et al., 2002). Si une représentation détaillée devait reposer sur le

recrutement de l'hippocampe, on devrait s'attendre, dans le cas où les animaux devaient s'avérer capables de discrimination à délai très long, à observer un niveau d'activité maintenu jusqu'à ce délai, ou tout du moins un désengagement uniquement transitoire.

Cependant, il est à noter que dans ces études, l'implication de l'hippocampe dans l'encodage de contextes nouveaux n'a été que peu prise en considération, bien que rapportée de manière récurrente dans la littérature (Wan et al., 1999, Jenkins et al., 2004). Une telle implication pourrait se manifester par un degré d'activation supérieur à délai long chez des animaux n'ayant pas été conditionnés au contexte. Ces animaux pourraient présenter une mémorisation du contexte moins durable, du fait des nombreuses dissemblances dans la manière dont ces animaux pourraient traiter l'information contextuelle au moment de la première exposition au contexte, par rapport à des animaux y étant conditionnés. De telles différences pourraient porter sur des modifications dans l'encodage voire la consolidation de la représentation ainsi formée. Par exemple le niveau de vigilance accru induit par les chocs électriques pourrait réguler sa consolidation (mécanisme pouvant impliquer par exemple les afférences de l'hippocampe en provenance du noyau basolatéral de l'amygdale ; pour des revues soulignant l'influence de l'éveil émotionnel sur la consolidation, voir par exemple McGaugh, 2006 ; Roozendaal et al., 2006 ; Schwarze et al., 2012). Ceci pourrait amener à un réengagement de l'hippocampe dans des processus d'encodage du contexte à des délais où les animaux non-conditionnés n'auraient plus accès à un souvenir moins solidement consolidé. De même, au moment de la réalisation de ce travail, aucune étude d'imagerie n'avait comparé les patrons d'activation provoqués par l'exposition à un contexte nouveau à ceux induits par une réexposition au contexte de conditionnement. Or, si l'implication de l'hippocampe devait se manifester par un différentiel d'activité en fonction du contexte et du processus de traitement mis en place (situation de rappel vs. encodage), il apparaît pertinent d'interroger le maintien ou la dégradation d'un tel différentiel en fonction de l'âge du souvenir.

Par ailleurs, la proposition d'un rôle fonctionnel différent des pôles septal (mnésique) et temporal (émotionnel) de l'hippocampe amène à questionner une implication différentielle de ces deux sous-parties de cette structure. En effet, au-delà des théories de la consolidation systémique, un rôle de l'hippocampe dans l'inhibition comportementale liée à l'anxiété a été avancé de manière récurrente (Gray & McNaughton, 2000 ; Chan et al., 2001 ; Deacon et al., 2002). Or, si la lésion de l'hippocampe ventral semble bien induire une réduction des réponses de peur à un son comme au contexte (Maren & Holt, 2004), des données convergentes de la

littérature semblent appuyer l'hypothèse d'une dissociation fonctionnelle, attribuant un tel rôle au seul hippocampe ventral (Pentkowski et al., 2006), tandis que l'hippocampe dorsal serait spécialisé dans les traitements mnésiques (Moser et al., 1995, Moser & Moser, 1998, Jenkins et al., 2004 ; Amin et al., 2006). De fait, il nous est apparu probable que les dynamiques de recrutement de ces deux sous-ensembles puissent être dissociables.

Un autre ensemble de structures particulièrement important dans les théories de la consolidation systémique a fait l'objet de notre attention : le cortex préfrontal médian. En effet, celui-ci, et plus particulièrement le cortex cingulaire antérieur, a été très tôt proposé comme un site alternatif potentiel de la commande du rappel d'une représentation ancienne du contexte (Frankland & Bontempi, 2005). Ces théories, si elles évoquent différents types de représentations contextuelles qui pourraient sous-tendre la peur à délai long, ont toutefois pour point commun d'avancer une augmentation de l'activité de zones néocorticales comme proportionnellement inverse à celle de la formation hippocampique (même en cas de coexistence de deux traces qualitativement différentes du contexte, la théorie de la transformation postule qu'une seule d'entre elles soit rappelée au moment de la réexposition). Or, de nombreuses données suggèrent par ailleurs une implication du cortex préfrontal médian dans des mécanismes émotionnels. Ainsi, le cortex cingulaire antérieur semble impliqué dans les mécanismes de traitement du stimulus douloureux utilisé en tant que SI (Johansen et al., 2001 ; Kung et al., 2003 ; Gao et al., 2004 ; Frankland & Teixeira, 2005 ; Tang et al., 2005 ; Malin & McGaugh, 2006), et les cortex prélimbique et infralimbique ont tous deux été avancés comme des zones corticales impliquées dans la régulation des réponses de peur (influences respectivement excitatrice pour le cortex prélimbique : Vidal-Gonzalez et al., 2006 ; Corcoran & Quirk, 2007 ; Burgos-Robles et al., 2009 ; Sotres-Bayon & Quirk, 2010 ; et inhibitrice concernant le cortex infralimbique : Quirk et al., 2000, Morgan et al., 2003 ; Milad & Quirk, 2002 ; Milad et al., 2004 ; Laurent et al., 2008 ; Laurent & Westbrook, 2009). Le cortex préfrontal médian faisant l'objet d'un grand nombre d'afférences véhiculant des informations portant à la fois sur le contexte externe et interne de l'organisme, il occupe en effet une place de choix dans la régulation des émotions liée à un traitement cognitif de haut niveau (Terreberry & Neafsey, 1983 ; Hurley et al., 1991). De fait, une implication de ces structures dans la généralisation des réponses de peur pourrait relever de mécanismes d'interfaçage associatif entre le contexte et l'émotion exprimée par les animaux plutôt que de

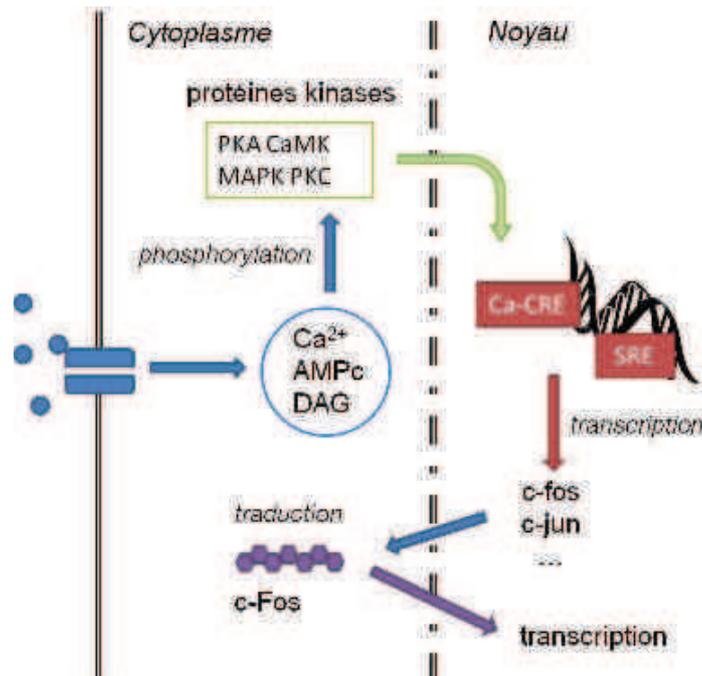
mécanismes mnémoniques de type épisodique. Une telle influence pourrait être mise en exergue par le patron de connectivité présenté par ces structures avec d'autres, impliquées dans le traitement des émotions, en fonction du délai et du contexte d'exposition. Si ces structures devaient intervenir dans la mise en place des mécanismes plastiques sous-tendant une incubation, cela devrait se manifester par une augmentation de l'activité dans ces structures à des délais où des niveaux de peur plus élevés peuvent être observés, quel que soit le contexte dans lequel la peur est testée.

Enfin, les structures de l'amygdale étendue ont également retenu notre attention, car représentant le premier ensemble de structures pouvant être supposé sous-tendre l'incubation des réponses de peur sur un versant non-associatif. Ainsi, si plusieurs études portant sur la peur conditionnée au contexte ont rendu compte de la mise en place d'une incubation des réponses de peur (Houston et al., 1999 ; Balogh et al., 2002 ; Frankland et al., 2004), le substrat neurobiologique précis de cette dernière n'a pas été caractérisé, une hypothèse récurrente consistant en des mécanismes de sensibilisation des circuits impliqués dans l'expression de la peur (Houston et al., 1999). Or, les noyaux amygdaliens, notamment central et le noyau du lit de la strie terminale, occupent une place de choix dans la commande de la réponse de peur : ils représentent les points de traitement de l'information émotionnelle à partir desquels diverge la commande des sous-composantes viscérales, hormonales et comportementales de l'expression des réponses de peur (LeDoux, 1996 ; Fendt & Fanselow, 1999). De plus, comme nous l'avions suggéré plus tôt, la mise en place d'une incubation observable pourrait reposer sur des mécanismes associatifs et/ou non-associatifs, dont le niveau d'implication respective pourrait diverger en fonction du type de conditionnement mis en place. En effet, un conditionnement au contexte en avant-plan est classiquement démontré induire un ensemble de modifications comportementales de type anxieuses chez le Rat (Van Dijken et al., 1992a ; Van den Berg et al., 1998 ; Korte & De Boer, 2003), tandis que l'incubation suite au conditionnement à un son (contexte en arrière-plan) semblerait dépendre de mécanismes plus clairement associatifs (Pickens et al., 2009a, 2009b, 2010). Ainsi, si une sensibilisation des voies de traitement de la réponse émotionnelle devait représenter une forme de plasticité non-associative expliquant l'incubation des réponses de peur, nous pourrions nous attendre à ce qu'une augmentation du recrutement de cet ensemble émerge

avec la mise en place d'une incubation, tout en étant modulée par le type de conditionnement employé.

Dans le but de clarifier la dynamique de distribution des réseaux neuronaux en fonction de l'ancienneté de la trace mnésique dans un protocole induisant une généralisation associée à une incubation, nous avons évalué la peur conditionnée au contexte de conditionnement ou à un contexte modifié à différents délais après le conditionnement : 24 heures et 28 jours, représentant les délais les plus utilisés dans la littérature (Kim & Fanselow, 1992 ; Hall et al., 2001), ainsi qu'un délai de 56 jours, délai long auquel Balogh et ses collaborateurs (2002) avaient montré une capacité de discrimination toujours présente chez les animaux. Nous avons également tenu compte du plan auquel le contexte est conditionné, en comparant un conditionnement en avant-plan et un conditionnement en arrière-plan, mis en place par des protocoles précédemment validés au laboratoire (Majchrzak et al., 2006 ; Marchand et al., 2007).

L'activité neuronale des différents ensembles mentionnés plus haut a été évaluée par un marquage immunohistochimique de la protéine codée par le gène précoce *c-fos*. Brièvement, une transmission synaptique suffisamment excitatrice amène à une élévation marquée du  $Ca^{2+}$  intra-cellulaire (que ce soit *via* des récepteurs ionotropes de type NMDA ou *via* une sollicitation de la voie de l'inositol triphosphate par des récepteurs métabotropes) et au recrutement de protéines kinases, entraînant à terme une phosphorylation de la protéine CREB amenant à l'expression de gènes précoces immédiats (*c-fos*, *c-jun*, *zif268*... Fig 1.). Si les protéines ainsi traduites sont à leur tour impliquées dans la transcription génique de facteurs de plasticité synaptique, c'est avant tout leur capacité à révéler une activité neuronale marquée qui a amené à leur utilisation comme méthode d'évaluation de l'activation de structures cérébrales. Dans ce cadre, l'immunomarquage de la protéine *c-Fos* est l'une des plus répandues et des mieux caractérisées de ces méthodes : contrairement aux gènes *c-jun* ou *zif268*, le gène *c-fos* n'est que très faiblement exprimé à l'état basal par les cellules nerveuses de l'organisme adulte. De fait, son expression vient marquer de manière nette l'activation des structures cérébrales. De plus, son induction par des stimulations externes a été montré possible dans une variété de situations, le rendant adapté à des protocoles de traçage de l'activité cérébrale au regard de conditions comportementales (Herdegen & Leah, 1998).



**Figure 1:** Représentation schématique de la cascade intra-cellulaire amenant à la synthèse de gènes précoces immédiats, parmi lesquels le gène *c-fos* (adapté de Hughes et Dragunow, 1995). Une activation neuronale importante, associée à une augmentation intra-cellulaire de seconds messagers (au premier plan desquels figurent le Ca<sup>2+</sup> et l'AMPc), amène à la phosphorylation de protéines kinases, allant commander la transcription de ces gènes.

Pour rendre compte du degré de cohérence de l'activité de certaines structures, et analyser les dynamiques de recrutement de ces ensembles fonctionnels, une analyse factorielle a été utilisée. Celle-ci permet de dégager, dans un ensemble de variables, des facteurs indépendants représentant de manière plus ou moins forte les variables initiales. De fait, elle permet de dégager dans un ensemble de structures cérébrales celles qui présentent un haut degré de connectivité fonctionnelle (présentant des patrons d'activation fortement corrélés) et dont les variations d'activité peuvent ensuite être interprétées en fonction de nos conditions expérimentales.

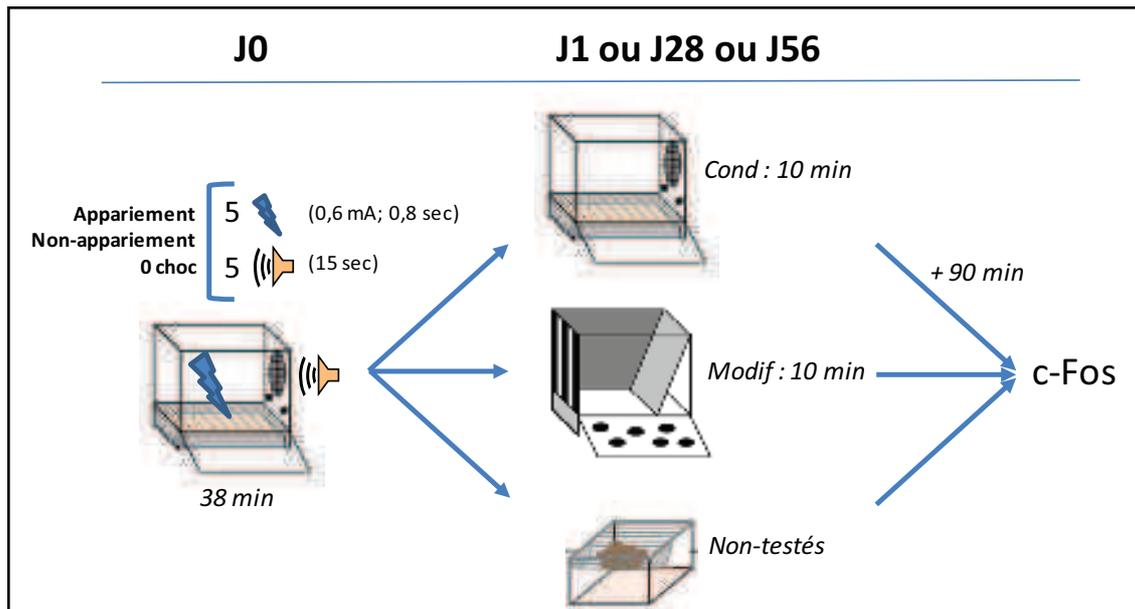
## 2. Matériels et Méthodes

### ◦ *Sujets*

Un total de 210 rats mâles Long Evans provenant du centre d'élevage R. Janvier (France) et pesant entre 280 et 320 g à leur arrivée au laboratoire sont utilisés pour cette expérience. Ils sont placés par paires dans des cages transparentes (42 x 29 x 15 cm) comportant une litière de sciure, sont élevés dans une pièce différente de la salle d'expérimentation et ont accès à l'eau et à la nourriture *ad libitum*. L'animalerie est soumise à un cycle lumière-obscurité de 12:12 h (lumière à 7h du matin, heure d'hiver) et une radio en fond sonore fonctionne pendant la phase éclairée du cycle. L'animalerie et les salles d'expérimentation ont une température et un taux d'humidité maintenus constants, respectivement à  $22 \pm 1^\circ\text{C}$  et  $35 \pm 5\%$ . Les expériences sont réalisés dans le respect des directives nationales (directive 87-848, 19 octobre 1987) et internationales (directive 86-609, 24 novembre 1986, Union Européenne) relatives à l'expérimentation animale.

### 2.1. *Conditionnement de peur*

La figure 2 résume le protocole expérimental mis en place pour l'évaluation de la peur conditionnée au contexte et de son substrat neurobiologique en fonction du protocole de conditionnement, du délai séparant le conditionnement de l'évaluation de la peur, ainsi que du contexte d'exposition.



**Figure 2** : Représentation schématique du protocole expérimental. Abréviations : Cond = contexte de conditionnement, Modif = contexte modifié.

◦ *Matériels*

Huit boîtes de conditionnement identiques (25 x 27 x 18 cm) placées dans des caissons (57 x 38 x 38 cm, Campden Instruments) atténuant la lumière et les bruits ambiants sont utilisées. Chaque caisson est ventilé (bruit de fond à 65 dB), éclairé par une ampoule (10 lux) et équipé d'une mini-caméra noir et blanc (MCT-210 MS, Opto-Vision, Toulouse, France) avec lentille grand angle (2,5 cm). Les boîtes de conditionnement sont constituées de parois en plexiglas transparent, l'une d'entre elles étant pourvue d'une ouverture (1 cm de diamètre), de deux lampes (éteintes) et d'un haut-parleur protégé par un grillage. Le plancher, sous lequel un plateau amovible contenant de la sciure peut être placé, est formé de barreaux parallèles en acier inoxydable (0,3 cm de diamètre, espacés régulièrement tous les 0,8 cm) permettant l'administration de chocs électriques. Ces derniers, leur intensité, ainsi que la production de sons par le haut-parleur et l'éclairage au sein de chaque caisson sont contrôlés par une interface Med-PC (Med Associates Inc., St Albans, VT, USA), reliée à un ordinateur équipé d'un logiciel commandant les moments d'apparition des chocs électriques et des sons. Les caméras sont reliées à deux multiplexeurs (chacun intégrant les images de quatre boîtes) situés dans une pièce adjacente, eux-mêmes reliés à deux magnétoscopes permettant l'enregistrement des séances. Le conditionnement et le test d'évaluation de la peur au contexte de conditionnement sont effectués dans les boîtes telles que décrites ci-dessus. Ces mêmes boîtes sont modifiées pour évaluer la généralisation des réponses de peur lors de la séance de

test. Pour ce faire, les modifications d'indices visuels et somesthésiques suivantes sont effectuées : la grille d'administration des chocs est recouverte d'une plaque de plastique blanche rugueuse, une plaque de plastique gris est placée devant la paroi équipée d'un haut-parleur à un angle de 110° par rapport au plancher et l'extérieur des trois autres parois est recouvert de feuilles blanches comportant différents motifs noirs (pleins, stries ou disques).

### ◦ *Manipulation des animaux*

L'ensemble des expérimentations a lieu entre 8 h et 13 h (heure d'hiver). Après une période d'acclimatation à l'animalerie (7 à 12 jours), les animaux sont pesés, numérotés sur la queue à l'aide de marqueurs indélébiles et manipulés quotidiennement pendant une minute au cours des six jours précédant la séance de conditionnement. Cette manipulation est poursuivie après le conditionnement pour les animaux testés aux délais de 28 jours aux jours 7 et 21 post-conditionnement, tandis que les animaux testés à 56 jours sont à nouveau manipulés 7, 21, 35 et 49 jours après le conditionnement.

### ◦ *Conditionnement*

Les rats sont transportés de l'animalerie à la salle d'expérimentation (faiblement éclairée, 2,5 lux) dans leur cage d'élevage, qui est posée sur un chariot et recouverte d'une blouse blanche. Huit animaux sont ainsi simultanément transportés et déposés dans les boîtes de conditionnement pour y être exposés pour une durée de 38 minutes. Cinq sons (15 s, 4kHz, 10dB au-dessus du bruit de fond) et cinq chocs électriques (0,8 s ; 0,6 mA) sont administrés aux animaux conditionnés selon un agencement temporel dépendant du protocole.

Pour le conditionnement du contexte en arrière-plan, un protocole d'appariement du son et du choc (groupe PA) est utilisé. Dans ce protocole, les cinq sons sont immédiatement suivis par la délivrance du choc électrique et présentés avec un intervalle de temps inter-essais variable (180, 525, 1093, 1333 et 2040 s après le placement dans la boîte).

Pour le conditionnement du contexte en avant-plan, un protocole de non-appariement du son et du choc (groupe UP) est utilisé. Dans ce protocole le son et le choc sont systématiquement découplés : les cinq chocs sont délivrés aux mêmes moments que dans le protocole d'appariement, mais les sons apparaissent de manière non contiguë à ceux-ci (360, 661, 867, 1560 et 1785 s après placement dans la boîte).

Le groupe témoin non-conditionné (NS) est exposé uniquement au contexte et aux sons, ces derniers apparaissant selon une séquence temporelle correspondant à celle employée pour les protocoles d'appariement (la moitié des animaux de ce groupe) ou de non-appariement (autre moitié des animaux).

A la fin de la séance de conditionnement, les animaux sont replacés dans leurs cages d'élevage, qui sont à nouveau recouvertes pour être transportées, sur un chariot, jusqu'à l'animalerie. Entre deux séries de conditionnement, les boîtes de conditionnement sont nettoyées à l'eau.

- *Test de la peur conditionnée au contexte*

Passé un délai de 24 heures, 28 jours ou 56 jours (respectivement groupes 24h, 28j et 56j), la peur conditionnée au contexte ou sa généralisation sont évaluées par exposition des animaux à l'un ou l'autre des contextes à l'exception d'animaux témoins des groupes PA et UP non-testés servant de groupe témoin pour évaluer le niveau d'expression basale de c-Fos.

Afin de limiter l'interférence liée au rappel du contexte de conditionnement du fait d'indices de transport congruents (Rudy et al., 2002), chaque cage est apportée manuellement en salle d'expérimentation, puis placée sur une table, la salle faisant l'objet d'un éclairage plus important (50 lux) que lors de la séance de conditionnement. Chaque séance de test de 10 min, durant laquelle aucun son ni choc n'est administré, permet l'évaluation des réponses des deux animaux d'une même cage, qui sont simultanément placés dans les mêmes boîtes que celles auxquelles ils avaient précédemment été exposés. La moitié des animaux de chacun des protocoles de conditionnement est réexposée au contexte de conditionnement, tandis que l'autre moitié est exposée au contexte modifié. Suite à cette exposition, les animaux sont replacés dans leur cage, ramenés manuellement à l'animalerie et les boîtes de conditionnement sont nettoyées à l'eau.

- *Quantification du freezing*

Du fait d'un problème technique ayant engendré un fort bruit dans les valeurs obtenues par le système automatisé d'acquisition des données (variations d'intensité détectées dans des boîtes ne contenant que des rats factices en papier), les enregistrements vidéo ont fait l'objet d'un codage manuel. Le *freezing*, défini comme absence de tout mouvement visible excepté ceux nécessaires à la respiration (Blanchard & Blanchard, 1969), a été codé par un

expérimentateur ignorant les conditions expérimentales attribuées à chacun des sujets, à l'aide d'un logiciel permettant l'enregistrement de séquences temporelles d'expression comportementale, par activation d'une touche donnée quand il est observé et d'une autre quand il ne l'est pas (logiciel ETHO développé par A. Marchand). Ce codage, réalisé animal par animal, a porté sur les deux minutes succédant à l'administration des chocs électriques lors du conditionnement ainsi que sur les dix minutes du test au contexte. A l'aide d'une macro-commande écrite sous Excel (Marchand et al., 2003), les fichiers obtenus pour chaque animal ont été convertis en un fichier d'échantillonnage, seconde par seconde, de la présence ou absence du comportement de *freezing*. Cet échantillonnage est traité de manière automatisée par cette même macro-commande pour être ramené à une expression en pourcentage de temps de ce comportement, l'intervalle temporel sur lequel ce pourcentage est calculé étant défini par l'expérimentateur.

### *2.2. Marquage immunohistochimique de la protéine c-Fos*

#### *◦ Euthanasie et préparation des coupes*

Quatre vingt cinq minutes après la fin du test au contexte (pour les animaux testés), les animaux sont amenés en salle d'autopsie et profondément anesthésiés par administration intra-péritonéale de pentobarbital sodique (120 mg/kg). Après clampage de l'aorte dorsale et section de l'oreillette droite, une perfusion intracardiaque (ventricule gauche) de 60 ml de paraformaldéhyde à 4% dans du tampon phosphate (0,1 M ; pH = 7,4 ; 4°C) est réalisée. Les cerveaux sont extraits et conservés dans le même fixateur pendant quatre heures à 4°C, puis transférés dans une solution de cryoprotection (saccharose à 30% dans le même tampon phosphate). Quarante-huit heures plus tard, les cerveaux sont congelés à  $-40 \pm 5^\circ\text{C}$  dans de l'isopentane, puis sont conservés à une température de  $-80^\circ\text{C}$  jusqu'à leur section au cryostat. Neuf coupes coronales sériées de 40  $\mu\text{m}$  sont récupérées aux niveaux d'intérêt suivant : +2,7 mm (cortex préfrontal), -0,4mm (noyau du lit de la strie terminale), -2,8 mm (amygdale), -3,8 mm (hippocampe dorsal), -4,8 mm (hippocampe ventral) et -7 mm (subiculum ventral, cortex entorhinal, substance grise périaqueducale), sur un axe antéropostérieur relatif au point Bregma selon l'atlas stéréotaxique de Paxinos & Watson (1998). Ces coupes sont recueillies dans des plaques de microtitration comportant un milieu de cryoprotection et stockées à  $-20^\circ\text{C}$  jusqu'à leur marquage immunohistochimique.

### ◦ *Immunohistochimie*

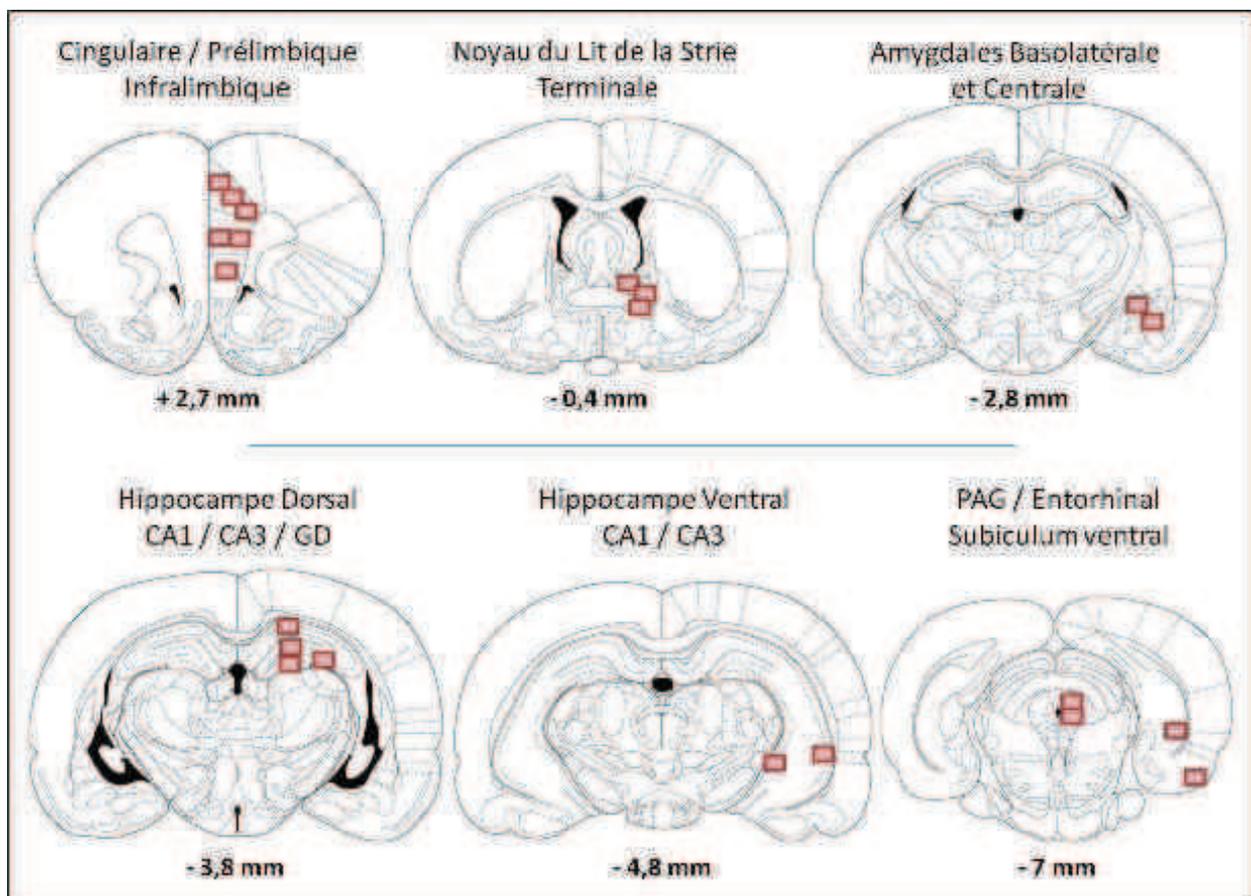
Les trois coupes sériées correspondant le mieux aux niveaux d'intérêt sont sélectionnées préalablement à la réalisation du protocole d'immunomarquage et réparties dans les puits de plaques de microtitration contenant 500 µl de tampon phosphate salin (PBS) contenant 0,02% de merthiolate. Au cours des temps d'incubation et de rinçage, les coupes sont placées sous agitation lente, à température ambiante et dans des volumes constants.

Après trois rinçages initiaux au PBS merthiolate (3 x 10 min), les coupes sont placées pendant une heure dans du sérum d'âne (dilué à 5% dans du PBS contenant 0,05% de Triton X-100). Elles sont ensuite incubées avec l'anticorps primaire dirigé contre la protéine c-Fos (anticorps polyclonal de lapin SC-52, Santa Cruz, à 1/4000 dans du PBS Triton) pendant 18 h. Consécutivement à trois rinçages de 10 min au PBS merthiolate, elles font l'objet d'une incubation d'une heure dans une solution de PBS Triton comportant l'anticorps secondaire (anticorps biotinylé de chèvre anti-lapin, 111-065-144, Jackson Immuresearch, dilution au 1/500). Après trois rinçages de 10 minutes successifs au PBS merthiolate, le complexe avidine-biotine-péroxydase est appliqué (dilution au 1/500, Kit « Elite » ABC, Vectastain, Vector Laboratories) pour une durée d'une heure pendant laquelle les coupes sont laissées à l'obscurité. Après deux rinçages au PBS merthiolate et un rinçage au tampon TRIS (0,6%) de 10 minutes chacun, les coupes sont placées dans la solution de révélation (3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride ; Kit DAB, SK 4100, Vector Laboratories). La révélation est interrompue passé un délai de six minutes par trois rinçages de dix minutes chacun au PBS merthiolate. Les coupes sont ensuite montées sur lames gélatinées, séchées à l'étuve (37°C) pendant 24 h, puis déshydratées par immersion dans des bains d'alcool de concentrations croissantes (1 min éthanol à 70%, 2 x 1 min éthanol à 95%, 2 x 1 min éthanol à 100%) puis placées dans le solvant de montage (LMRsol, 3 min au minimum) avant application du milieu d'inclusion (Eukitt) et montage sous lamelle.

### ◦ *Quantification*

Des photographies numériques des régions d'intérêt sont obtenues bilatéralement à l'aide d'un microscope optique couplé à une caméra numérique (Olympus DP-70, grossissement x 20, fenêtre de comptage de 445 x 335 µm). La localisation des fenêtres de comptage est préalablement définie sur des coupes réalisées aux mêmes niveaux et colorées au violet de crésyl. Six photographies sont ainsi obtenues pour chaque fenêtre de comptage

chez chaque animal. Les structures étudiées analysées sont : le cortex cingulaire antérieur (trois fenêtres de comptages des couches les plus superficielles aux plus profondes), le cortex prélimbique (deux fenêtres), le cortex infra-limbique (une fenêtre), le noyau du lit de la strie terminale (NST, trois fenêtres correspondant aux divisions médiane, latérale et ventrale), le noyau basolatéral de l'amygdale (une fenêtre), le noyau central de l'amygdale (médian, une fenêtre), l'hippocampe dorsal (gyrus denté, deux fenêtres CA3 et CA1, une fenêtre chacun), l'hippocampe ventral (CA3 et CA1, deux fenêtres), le cortex entorhinal (une fenêtre), le subiculum ventral (une fenêtre) et la substance grise périaqueducale (PAG, divisions dorsolatérale et ventrolatérale, deux fenêtres). Les fenêtres de comptage sont représentées sur la figure 3.



**Figure 3** : Représentation schématique des zones de comptage pour chacune des structures à l'étude. Les planches sont tirées de l'Atlas stéréotaxique de Paxinos & Watson (1998). Les rectangles rouges symbolisent les positions approximatives des fenêtres de comptages. Les niveaux de coupe sont indiqués selon un axe antéropostérieur par rapport au Bregma.

Le comptage du nombre de noyaux marqués par l'immunohistochimie est effectué à l'aide d'une macro-commande développée au laboratoire (Muller C & Mutterer J) permettant au logiciel Image J (logiciel gratuit, Wayne Rasband, Research Services Branch, National Institute of Mental Health, Bethesda, Maryland, USA) de réaliser un comptage semi-automatique. Le seuil d'intensité lumineuse au-delà duquel les noyaux ne sont pas comptabilisés est fixé pour chaque image par l'expérimentateur, qui se base pour ce faire sur la distribution des intensités sur l'image en déterminant une intensité suffisamment basse pour maximiser le rapport signal / bruit (de forme gaussienne, la distribution des intensités est représentative du bruit de fond). Après avoir appliqué de manière automatisée des critères de taille et de sphéricité, définis préalablement par l'expérimentateur, aux objets ainsi déterminés (zones denses d'intensité lumineuse subliminaire), le logiciel dénombre le nombre d'objets marqués. Une telle méthode a fait l'objet d'une validation préalable au laboratoire démontrant le très faible écart entre le résultat obtenu et un comptage manuel.

La moyenne du nombre de neurones marqués pour chaque fenêtre a été calculée pour chaque animal, intégrant les trois coupes sériées ainsi que les deux hémisphères cérébraux. Dans les cortex cingulaire antérieur et prélimbique, la somme des moyennes des différentes fenêtres a été calculée pour chaque animal.

### 2.3. Analyses statistiques

Les données comportementales (pourcentage de temps passé en *freezing*) obtenues chez les animaux conditionnés et testés (les animaux non-conditionnés n'ayant à aucun moment présenté d'immobilité, ils n'ont pas fait l'objet d'un codage manuel) sont analysées avec le logiciel STATISTICA (Statistica Softwares, v6.1, 2003).

Pour chaque protocole, les données obtenues lors du conditionnement font l'objet d'analyses de variance à mesure répétée (ANOVA) incluant les facteurs Délai (24h, 28j, 56j), Contexte (Conditionnement, Modifié) et Choc (mesure répétée, 5 x moyennes sur 2 min du *freezing* consécutif à l'administration des chocs électriques).

Le test au contexte fait l'objet de deux types d'analyse. D'une part, le pourcentage moyen de *freezing* pendant la séance, ce qui correspond à la mesure la plus commune de ce comportement dans la littérature, est analysé par ANOVA factorielles. En raison de la mise en place de mécanismes de régulation des réponses de peur au cours de la séance, aboutissant à

une réduction variable des réponses en fin de séance, les trois dernières minutes sont exclues de ces moyennes dans le but de diminuer une source d'interférence dans l'expression de la peur, décrite par le second type d'analyse. D'autre part, la dynamique des réponses est analysée en séparant la séance en différents blocs temporels. En effet, la réponse immédiate des animaux semble correspondre à la « période de recrutement de la représentation du contexte avant que les animaux ne commencent à exprimer du *freezing* » (Young & Fanselow, 1992), c'est pourquoi la première minute est analysée séparément. Une exposition d'une durée d'une minute a d'ailleurs précédemment été décrite comme suffisante pour agir comme indice de rappel d'une expérience ancienne (Wiltgen & Silva, 2007 ; Winocur et al., 2009), suggérant que cette période de temps est suffisante pour que l'animal exposé au contexte de conditionnement émette une réponse de peur liée à la reconnaissance de ce contexte. Les neuf minutes restantes ont été analysées par une ANOVA à mesures répétées sur trois blocs de trois minutes, permettant de rendre compte de la dynamique de réduction du *freezing* au cours de la séance (le « pic » étant généralement atteint autour de la troisième minute). Pour chacune de ces analyses, un test *post-hoc* (LSD de Fischer) est réalisé.

Les données immunohistochimiques font l'objet tout d'abord d'analyses sur les données brutes, par comparaisons des moyennes des groupes exposés (NS, PA et UP) à celles des témoins non testés (niveau de base d'expression de la protéine c-Fos), dans le but de mettre en évidence les activations de structures cérébrales liées à l'exposition à la situation expérimentale dans les deux contextes (tests t de Student). Dans un second temps, ces données sont soumises à une analyse factorielle (méthode d'extraction des composantes principales) incluant l'ensemble des animaux exposés. Ce type d'analyse permet d'extraire, à partir d'un ensemble de variables dépendantes, les régularités dans les corrélations entre ces variables pour les représenter sous forme de facteurs en nombres limités, évitant ainsi une multiplication des calculs de coefficients de corrélation entre les variables mesurées. En effet, plus le nombre de variables est important, plus une interprétation globale des résultats prenant en compte l'ensemble des corrélations est difficile à dégager. Ainsi, l'analyse factorielle permet de réduire les données en des facteurs (*a priori* arbitraires) eux-mêmes plus ou moins corrélés avec un sous-ensemble de variables. C'est pourquoi elle est souvent utilisée dans le but de comprimer des données étendues pour en faciliter l'interprétation, si ce n'est dans le but de détecter la structure sous-jacente à la variabilité des résultats observés. Appliquée à nos

données d'immunohistochimie, elle permet d'extraire les relations de connectivité entre les différentes structures à l'étude et de représenter de manière synthétique des ensembles fonctionnels cohésifs, pouvant être interprétés de manière plus simple que l'analyse séparée des modifications de l'expression de la protéine c-Fos dans chacune de ces structures et l'interprétation des corrélations deux-à-deux entre ces structures.

La première étape de l'analyse factorielle est le choix du nombre de facteurs à conserver. Celui-ci est défini par utilisation du critère de Kaiser : seuls les facteurs présentant une valeur-propre supérieure à un sont retenus. Une valeur-propre égale à un signifie que la proportion de variance totale expliquée par un facteur supplémentaire (non-expliquée par les facteurs précédents) correspond à l'équivalent de la variance de l'une des variables initiales. En d'autres termes, une valeur propre supérieure à un signifie que ce facteur explique plus de variabilité que les variables initiales, et permet donc bien une compression des données. Les facteurs alors calculés ont pour propriété d'être orthogonaux : ils sont définis de manière à minimiser les corrélations qui les unissent (par extension minimiser les redondances entre les facteurs, tout en maximisant le caractère explicatif du modèle extrait). Une rotation varimax normalisée est appliquée à la structure factorielle ainsi définie, ce qui permet, au sein de chaque facteur, de maximiser la variance des poids factoriels (contribution au facteur calculé) des variables mesurées. Ceci offre une lecture plus claire des différents facteurs, car maximisant les écarts de poids factoriels entre les variables étant très représentées par ce facteur et celles n'y contribuant que peu. Le modèle factoriel ainsi défini peut alors être évalué par différents moyens tels que l'observation de la matrice des résidus de corrélation, indiquant les écarts entre la matrice de corrélation observée et celle prédite par le modèle. Cette matrice des résidus permet en effet de souligner quelles sont les corrélations les moins bien expliquées par ce modèle, i.e. celles étant sous-représentées ou surestimées. En lien avec ces résidus, la communauté des variables incluses dans le modèle peut être évaluée : elle représente la proportion de variance de chaque variable expliquée par ses relations avec les autres telles que prédites par le modèle. En d'autres termes elle permet de « pondérer » le caractère explicatif du modèle pour chacune des variables initiales. Un modèle fortement explicatif des variables à partir desquels il est calculé permet idéalement de minimiser les résidus des corrélations, tout en maximisant la communauté des variables.

Une fois le modèle défini, les scores factoriels sur chacun des facteurs sont calculés pour chaque sujet, dans le but de permettre une comparaison de la distribution de ces scores

au regard des variables expérimentales. En effet, chaque facteur est plus ou moins corrélé à un sous-ensemble de structures, et le score factoriel est une unité arbitraire intégrant la valeur standardisée de chaque score obtenu par chaque animal à chaque variable, pondérée selon un coefficient représentant le poids factoriel de cette variable sur le facteur en question. Ainsi, si les facteurs permettent de dégager des ensembles généraux sur la base de calculs corrélatifs, ils ne permettent pas en eux-mêmes de rendre compte de variations dans l'amplitude des mesures, c'est-à-dire dans notre cas de distinguer la force avec laquelle est recruté l'un des sous-ensembles de structures. Les scores factoriels permettent alors d'attribuer à chaque sujet une position en lien avec ce facteur : un score positif représentant une forte activité de cet ensemble, un score négatif un niveau plus bas d'activité, et un score proche de zéro soit un niveau intermédiaire, soit une activation uniquement d'un sous-ensemble de structures parmi celles fortement représentées par le facteur. Ces scores factoriels représentent donc la contribution relative de chaque sujet à chaque facteur : leur calcul se base sur la distribution des données standardisées incluses à l'analyse, et leur moyenne est égale à zéro. Ce faisant, ils permettent d'étudier l'influence des conditions expérimentales sur le degré d'activation de chacun des ensembles décrits par les facteurs. Pour analyser les différences entre les groupes expérimentaux, une ANOVA à trois facteurs (Protocole, Délai et Contexte) est réalisée pour les scores factoriels de chaque facteur, des comparaisons *post-hoc* étant réalisées par test LSD de Fischer.

3. *Résultats*

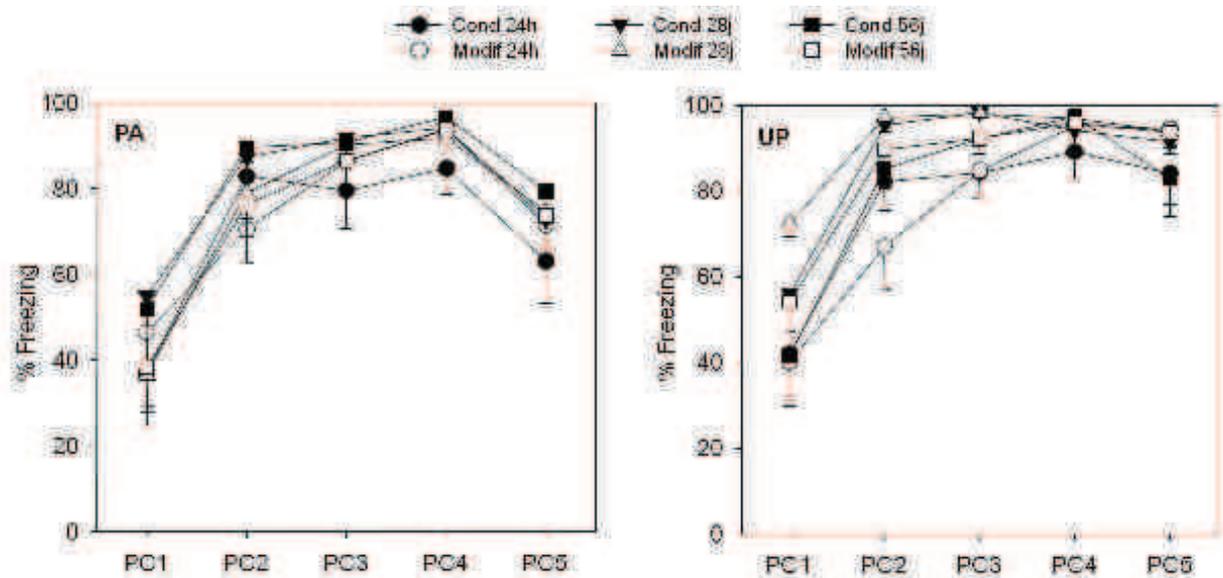
Suite à divers problèmes survenus à l'une ou l'autre des phases de l'expérience (pour la partie comportementale, défaut de délivrance des chocs électriques et manipulation ayant entraîné un stress avant l'une ou l'autre des phases d'exposition ; pour la partie immunohistochimique, essentiellement des coupes trop abimées), 25 animaux ont du être exclus des analyses statistiques. Les effectifs finaux de chacun des groupes sont détaillés dans le tableau 1.

		24 heures		28 jours		56 jours	
		Comportement	c-Fos	Comportement	c-Fos	Comportement	c-Fos
Non-conditionnés	Conditionnement		11		9		9
	Modifié		11		8		8
Protocole d'appariement	Conditionnement	10	9	10	10	10	9
	Modifié	11	9	9	8	10	9
Protocole de non-appariement	Conditionnement	10	10	10	9	9	8
	Modifié	11	11	10	10	10	10
Non-testés		10					

**Tableau 1** : Effectifs terminaux de chacun des groupes inclus à l'analyse comportementale (N = 120, les témoins non-conditionnés et non-testés n'étant pas inclus à cette analyse) et à l'analyse des données immunohistochimiques (N = 178)

## 3.1. Conditionnement de peur

La figure 4 représente les pourcentages de temps passé en *freezing* obtenus suite à l'administration des chocs électriques au moment du conditionnement.



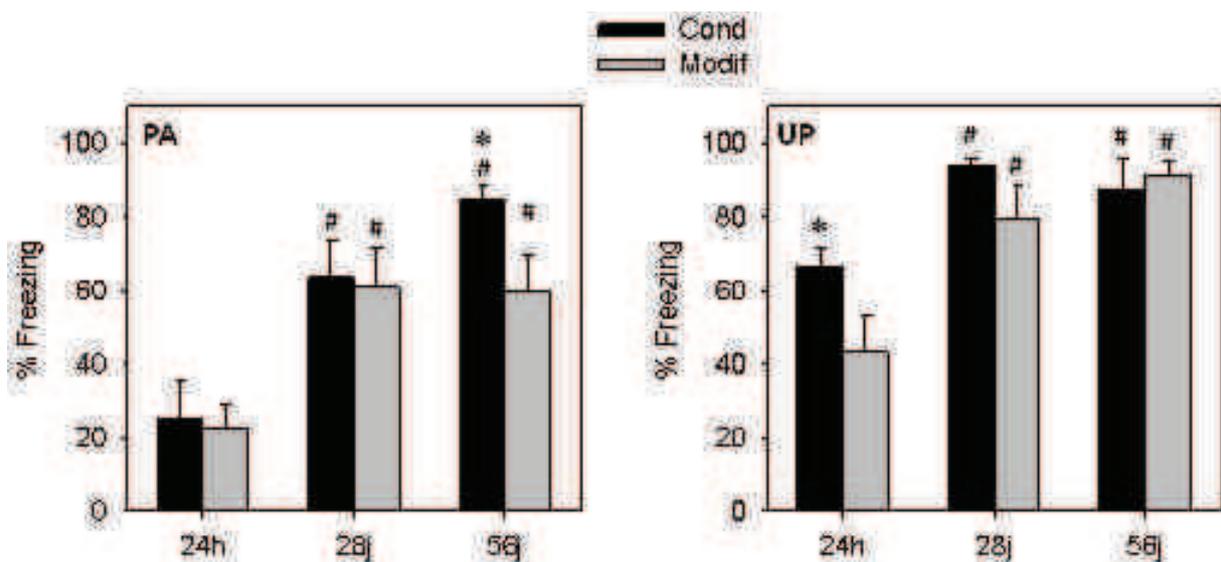
**Figure 4** : Pourcentages de *freezing* (moyennes  $\pm$  erreurs-types) suite à l'administration des différents chocs électriques au moment du conditionnement. Abréviations : PA = groupes conditionnés avec un protocole d'appariement ; UP = groupes conditionnés avec un protocole de non-appariement ; PC = post-choc ; Cond = test dans le contexte de conditionnement ; Modif = test dans le contexte modifié.

Chez les animaux conditionnés avec un protocole d'appariement (PA), ces pourcentages sont élevés (plus de 60%), quels que soient le délai et le contexte auxquels les animaux sont exposés par la suite. L'ANOVA indique effectivement une absence d'effet significatif pour les facteurs Contexte ( $F_{1,54} = 0,6$  ;  $p > 0,1$ ) et Délai ( $F_{2,53} = 1$  ;  $p > 0,1$ ) ainsi que pour leur interaction ( $F_{2,53} = 0,96$  ;  $p > 0,1$ ). Un effet du facteur de répétition est obtenu ( $F_{4,212} = 74$  ;  $p < 0,001$ ), mais sans interaction d'ordre supérieur ( $p_{\max} = 0,13$ ) : l'analyse *post-hoc* démontre une augmentation de la réponse de peur jusqu'au troisième choc ( $p_{\max} < 0,05$ ), une absence d'augmentation entre le troisième et le quatrième choc ( $p = 0,1$ ), puis une réduction du *freezing* suite au dernier choc ( $p < 0,001$ ). Dans les groupes conditionnés avec le protocole de non-appariement (UP), des pourcentages de *freezing* très élevés sont également constatés (plus de 80%) indépendamment des conditions expérimentales. L'ANOVA indique une absence d'effet significatif du facteur Contexte ( $F_{1,54} = 1,2$  ;  $p > 0,1$ ) mais un effet significatif des facteurs Délai ( $F_{2,54} = 6,17$  ;  $p < 0,01$ ), Choc ( $F_{4,216} = 77$  ;  $p < 0,1$ ) et de leur

interaction ( $F_{8,216} = 2,11$  ;  $p < 0,05$ ). L'analyse *post-hoc* attribue cet effet à la réponse des animaux aux premiers chocs électriques, les animaux devant être testés à 28 jours présentant une réponse plus élevée aux trois premiers chocs par rapport aux animaux testés à un jour ( $p_{\max} < 0,05$ ), et au premier choc par rapport aux animaux testés à 56 jours ( $p < 0,01$ ). Cependant, aucune différence significative n'est observée en fin de séance, suggérant l'atteinte d'un plateau similaire par l'ensemble des animaux.

### 3.2. Test au contexte

Les pourcentages de temps de *freezing* obtenus chez les groupes conditionnés lors du test au contexte sont illustrés à la figure 5, en fonction du délai et du contexte pour chacun des protocoles de conditionnement.



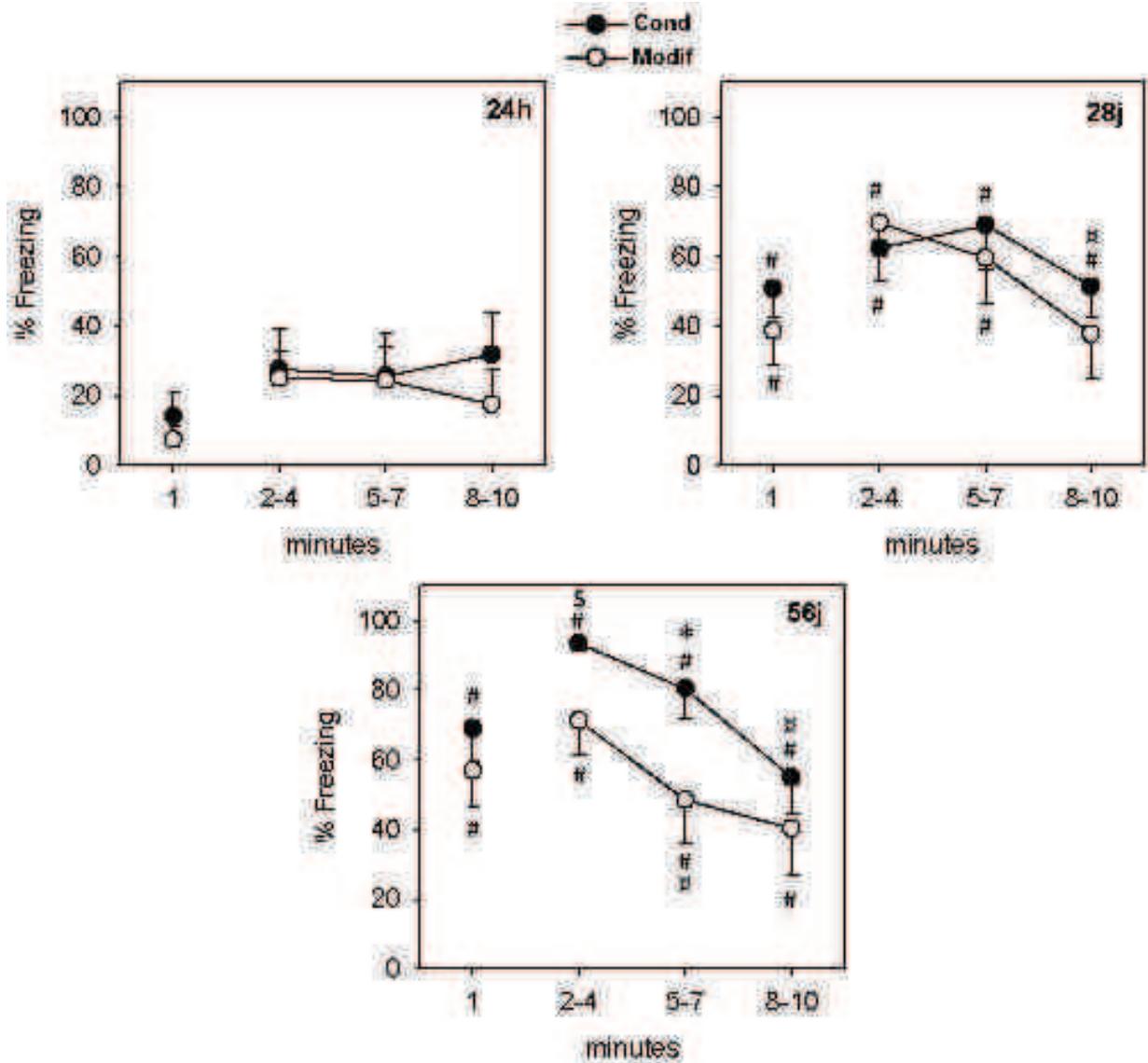
**Figure 5** : Pourcentages de *freezing* (moyennes + erreurs-types) pendant le test au contexte. Abréviations : PA = groupes conditionnés avec un protocole d'appariement ; UP = groupes conditionnés avec un protocole de non-appariement ; Cond = contexte de conditionnement ; Modif = contexte modifié. Statistiques : \* = différent du contexte modifié au même délai ; # = différent du délai de 24h dans le même contexte ; tous les  $p < 0,05$ .

Dans les groupes conditionnés avec le protocole d'appariement (PA), les pourcentages de *freezing* sont équivalents entre les contextes aux délais de 24 heures et de 28 jours, mais différents au délai de 56 jours. De plus, on constate une augmentation des réponses de peur aux deux délais les plus longs par rapport au délai de 24 heures, quel que soit le contexte de

test. L'analyse statistique indique un effet significatif du facteur Délai ( $F_{2,53} = 16,9$  ;  $p < 0,001$ ), mais pas du facteur Contexte ( $F_{1,54} = 1,9$  ;  $p > 0,05$ ) ni de leur interaction ( $F_{2,53} = 1,06$  ;  $p > 0,05$ ). Cependant, les comparaisons deux-à-deux révèlent une différence significative liée au contexte à un délai de 56j ( $p < 0,05$ ), ainsi qu'une différence entre les niveaux de peur exprimés à 24h et ceux exprimés aux délais les plus longs, que ce soit dans le contexte de conditionnement (28j :  $p < 0,01$  ; 56j :  $p < 0,001$ ) ou dans le contexte modifié (28j :  $p < 0,01$  ; 56j :  $p < 0,01$ ).

Dans les groupes conditionnés avec le protocole de non-appariement (UP), le pourcentage de *freezing* est plus élevé dans le groupe 24h dans le contexte de conditionnement que dans le contexte modifié. Cette différence n'est pas retrouvée dans les groupes testés aux délais plus longs, où les niveaux de peur plus importants approchent de la réponse maximale. L'ANOVA indique un effet significatif du facteur Délai ( $F_{2,54} = 14,7$  ;  $p < 0,001$ ), une tendance à un effet du facteur Contexte ( $F_{1,55} = 3,66$  ;  $p = 0,06$ ), ainsi qu'une absence d'interaction entre ces facteurs ( $F_{2,54} = 1,88$  ;  $p > 0,1$ ). La comparaison *post-hoc* confirme que les pourcentages de *freezing* ne diffèrent entre les contextes qu'au délai le plus court ( $p < 0,05$ ) et qu'ils sont plus élevés aux délais les plus longs quel que soit le contexte d'exposition (de conditionnement : 28j  $p < 0,01$  ; 56j  $p < 0,05$  ; modifié : 28j  $p < 0,001$  ; 56j  $p < 0,001$ ).

La figure 6 détaille la dynamique temporelle des réponses de peur exprimées par les animaux conditionnés avec un protocole d'appariement.

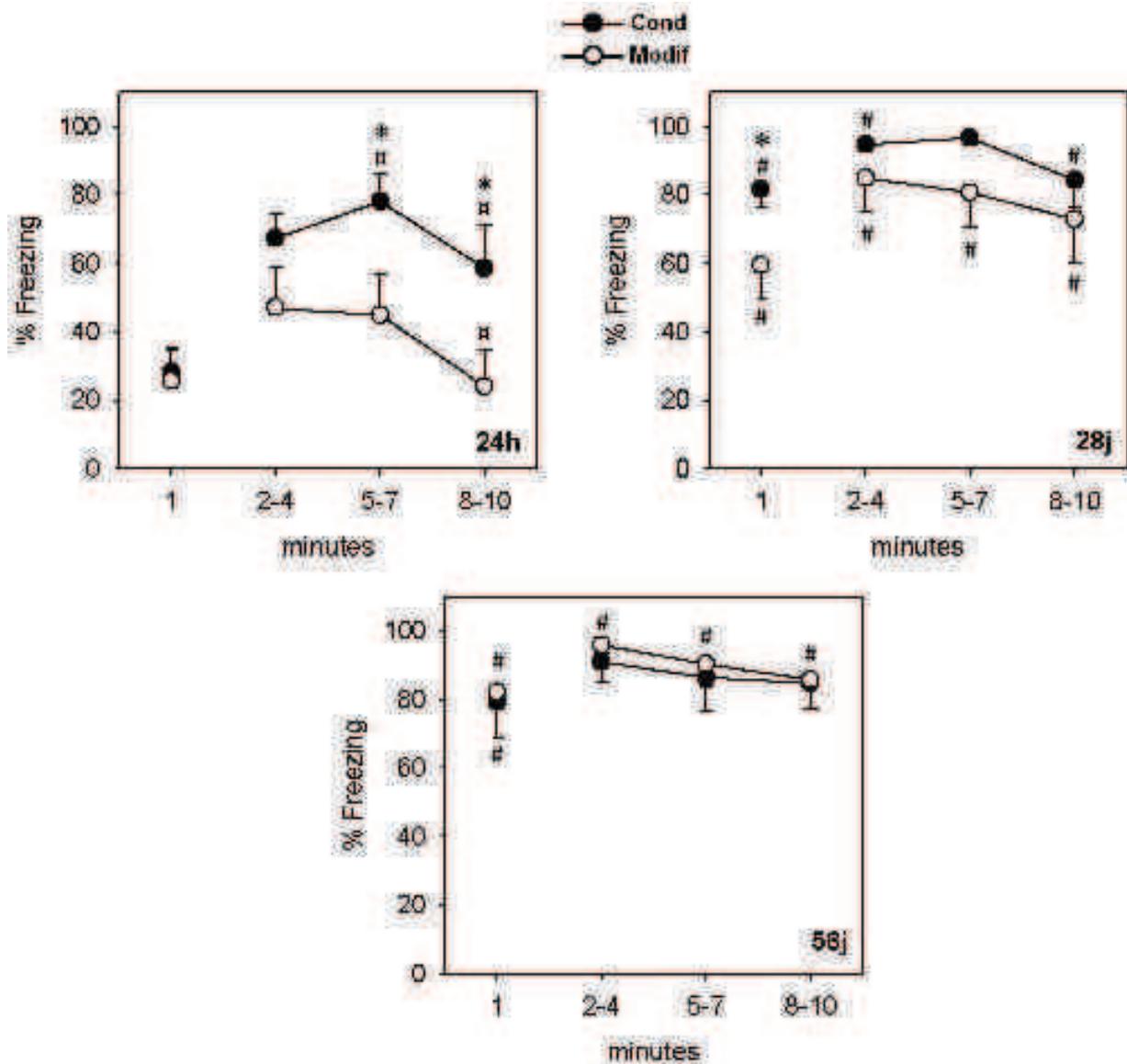


**Figure 6 :** Dynamique temporelle du pourcentage de *freezing* (moyennes + ou - erreurs-types) des groupes conditionnés avec un protocole d'appariement pendant le test au contexte. Abréviations : 24h = test à 24 heures ; 28j = test à 28 jours ; 56j = test à 56j ; Cond = contexte de conditionnement ; Modif = contexte modifié. Statistiques : \* = différent du contexte modifié à la même période ; # = différent du délai de 24h à la même période ; \$ = différent du délai de 28j à la même période ; □ = différent du bloc précédent ; tous les  $p < 0,05$ .

Chez ces animaux, on constate des niveaux de peur immédiate plus élevés aux délais longs (28 et 56 jours) qu'au délai court (24 heures), ces réponses n'étant pas différentes en fonction du contexte d'exposition. L'ANOVA réalisée sur la première minute d'exposition confirme un effet significatif du facteur Délai ( $F_{2,53} = 20,65$  ;  $p < 0,001$ ) mais pas du facteur Contexte ( $F_{1,54} = 2,28$  ;  $p > 0,05$ ) ni de leur interaction ( $F_{2,53} = 0,07$  ;  $p > 0,05$ ). Les comparaisons *post-hoc* révèlent des différences entre le délai de 24 heures et les délais les plus longs dans le contexte de conditionnement (28j  $p < 0,01$  ; 56j  $p = 0,01$ ) comme dans le contexte modifié ( $p < 0,001$  aux deux délais).

Les données obtenues les neuf minutes suivantes montrent que les niveaux de peur aux délais les plus longs sont plus élevés qu'au délai de 24 heures tout au long de la séance. Ils mettent aussi en évidence une réduction intra-séance des réponses de peur à ces délais. Cette réduction semble apparaître de manière plus précoce dans le contexte modifié au délai de 56 jours. A ce délai les niveaux de peur sont plus importants dans le contexte de conditionnement que dans le contexte modifié au deuxième bloc (minutes cinq à sept). Enfin, le pic de réponse au premier bloc (minutes deux à quatre) semble augmenter avec l'accroissement du délai séparant le test du conditionnement. L'ANOVA indique un effet du facteur Délai ( $F_{2,53} = 12,3$  ;  $p < 0,001$ ), une absence d'effet du facteur Contexte ( $F_{1,54} = 1,97$  ;  $p > 0,05$ ) et pas d'interaction entre ces facteurs ( $F_{2,53} = 1,08$  ;  $p > 0,05$ ). Le facteur de répétition Bloc présente, quant à lui, un effet significatif ( $F_{2,106} = 15,96$  ;  $p < 0,001$ ) ainsi qu'une interaction avec le facteur Délai ( $F_{2,54} = 3,08$  ;  $p < 0,05$ ). Les comparaisons *post-hoc* montrent que, quel que soit le contexte, le pourcentage de *freezing* est plus important aux délais longs qu'à celui de 24 heures ( $p_{\max} < 0,05$ ) et ce pour tous les blocs excepté le dernier bloc à 28 jours dans le contexte modifié ( $p > 0,05$ ). La diminution des réponses de peur est significative entre les deuxième et troisième blocs des animaux testés aux délais les plus longs dans le contexte de conditionnement (28j  $p < 0,05$  ; 56j  $p < 0,01$ ) tandis qu'une telle diminution est observée entre le premier et le second bloc des animaux testés à 56 jours dans le contexte modifié ( $p < 0,05$ ). Cette diminution plus rapide dans le contexte modifié à ce délai est associée à un différentiel de la peur entre les deux contextes ( $p < 0,05$ ). Enfin, le pourcentage de *freezing* au cours du premier bloc est plus élevé à 56 jours qu'à 28 jours dans le contexte de conditionnement ( $p < 0,05$ ).

La figure 7 détaille la dynamique des réponses de peur exprimées par les animaux conditionnés avec un protocole de non-appariement (UP).



**Figure 7** : Dynamique temporelle du pourcentage de *freezing* (moyennes + ou - erreurs-types) des groupes conditionnés avec un protocole de non-appariement pendant le test au contexte.  
 Abréviations : 24h = premier test à 24 heures ; 28j = premier test à 28 jours ; Cond = contexte de conditionnement ; Modif = contexte modifié. Statistiques : \* = différent du contexte modifié à la même période ; # = différent du délai de 24h à la même période ; □ = différent du bloc précédent ; tous les  $p < 0,05$ .

Dans ces groupes, on peut également observer des niveaux de peur immédiate plus élevés aux délais les plus longs. A un délai de 28j, cette peur immédiate semble plus marquée chez les animaux réexposés au contexte de conditionnement. L'ANOVA réalisée sur la

première minute d'exposition montre un effet significatif du facteur Délai ( $F_{2,54} = 25$  ;  $p < 0,001$ ) mais pas du facteur Contexte ( $F_{1,55} = 1,18$  ;  $p > 0,05$ ), ni de l'interaction entre ces facteurs ( $F_{2,54} = 1,31$  ;  $p > 0,05$ ). Les tests *post-hoc* révèlent une différence entre les délais les plus longs et celui de 24 heures quel que soit le contexte d'exposition ( $p_{\max} < 0,01$ ). De plus, une différence entre les contextes est confirmée à un délai de 28 jours ( $p = 0,05$ ).

La dynamique d'expression de la peur semble se caractériser par un maintien de la peur au cours de la séance, particulièrement chez les animaux testés à délai long. Ceux-ci, présentant des niveaux quasi-maximaux sur la totalité de la séance, l'expression de la peur est d'intensité similaire entre les deux contextes. L'analyse statistique indique des effets significatifs des facteurs Délai ( $F_{2,54} = 13$  ;  $p < 0,001$ ), Contexte ( $F_{1,55} = 3,91$  ;  $p = 0,05$ ) et Bloc ( $F_{2,108} = 8$  ;  $p < 0,001$ ), mais pas d'interaction significative entre ces facteurs ( $F_{\max} = 2,3$ ,  $p = 0,1$ ). Les comparaisons deux-à-deux mettent en évidence des diminutions de la peur au cours de la séance (entre les deuxième et troisième blocs) uniquement au délai de 24 heures (contexte de conditionnement  $p < 0,05$  ; contexte modifié  $p < 0,01$ ). A ce délai, il existe une différence des niveaux de peur entre les deux contextes seulement lors des deux derniers blocs ( $p < 0,01$  dans les deux cas) et le niveau maximal de peur semble s'exprimer lors du deuxième bloc (min 5 à 7) chez les animaux exposés au contexte de conditionnement (différence au premier bloc  $p < 0,05$ ). Des niveaux de *freezing* plus importants qu'à 24 heures sont retrouvés quels que soient le bloc et le délai considérés lors d'une exposition au contexte modifié ( $p_{\max} < 0,01$ ). Chez les animaux réexposés au contexte de conditionnement, on constate une telle augmentation de la peur avec le délai uniquement aux premier et dernier blocs ( $p < 0,05$ ) mais pas dans le second bloc du test à 28 jours. Cet effet du délai est également absent entre les délais de 28 et 56 jours, quel que soit le bloc considéré.

### 3.3. Données brutes du nombre de neurones c-Fos positifs

Le tableau 2 représente le nombre de neurones comptés dans les trois ensembles de structures à l'étude pour chacun des groupes expérimentaux, en mettant en évidence les résultats des comparaisons des moyennes. Celles-ci concernent la comparaison de chaque groupe aux animaux non-testés (niveau basal d'expression de c-Fos) : l'absence de différence significative à ces groupes est indiquée par des cases violettes, une tendance à la significativité est indiquée par les cases roses.

	Non-Testés	NS Cond 24h	PA Cond 24h	UP Cond 24h	NS Cond 28j	PA Cond 28j	UP Cond 28j	NS Cond 56j	PA Cond 56j	UP Cond 56j
CA1	1,68 ± 0,40	12,33 ± 1,50	10,31 ± 2,73	10,72 ± 2,47	21,05 ± 4,19	17,41 ± 2,20	14,85 ± 2,83	21,21 ± 2,65	16,81 ± 2,41	12,77 ± 1,50
CA3	1,45 ± 0,26	4,70 ± 0,77	3,40 ± 0,66	3,56 ± 0,65	6,93 ± 0,76	6,31 ± 0,85	4,33 ± 0,59	6,95 ± 0,70	6,88 ± 0,73	5,81 ± 0,41
Ento	2,93 ± 0,96	23,07 ± 2,88	14,88 ± 3,27	14,15 ± 2,14	27,46 ± 4,36	20,83 ± 1,98	15,11 ± 2,85	30,23 ± 1,98	21,03 ± 2,98	18,58 ± 2,27
GD	3,64 ± 1,16	4,19 ± 0,74	3,66 ± 0,69	3,45 ± 0,75	7,27 ± 1,14	5,68 ± 1,03	5,68 ± 0,97	8,43 ± 1,42	7,19 ± 0,73	6,78 ± 0,80
vCA1	2,22 ± 0,84	6,17 ± 1,08	4,27 ± 0,77	3,76 ± 1,00	10,56 ± 1,84	8,44 ± 1,56	10,05 ± 1,75	12,37 ± 1,52	11,00 ± 1,05	8,92 ± 1,16
vCA3	1,04 ± 0,50	1,90 ± 0,35	1,55 ± 0,33	0,96 ± 0,29	2,56 ± 0,30	2,14 ± 0,38	2,13 ± 0,50	2,89 ± 0,29	2,76 ± 0,26	2,19 ± 0,32
Subiculum	1,41 ± 0,35	7,30 ± 1,27	4,28 ± 1,07	6,26 ± 1,91	12,82 ± 3,44	13,52 ± 2,70	11,98 ± 1,75	17,40 ± 3,29	16,67 ± 0,69	14,13 ± 2,13
Cg1	2,81 ± 0,88	20,27 ± 3,07	22,48 ± 4,31	27,20 ± 5,55	62,59 ± 16,77	55,69 ± 9,51	50,58 ± 8,98	84,09 ± 10,71	73,19 ± 15,15	69,93 ± 7,01
PRL	2,66 ± 1,62	14,22 ± 2,69	16,19 ± 4,36	15,39 ± 3,46	47,20 ± 13,60	48,38 ± 8,88	37,70 ± 7,39	51,55 ± 8,24	53,54 ± 9,94	54,56 ± 5,87
IL	1,02 ± 0,26	14,38 ± 3,47	14,77 ± 3,31	10,46 ± 2,44	37,36 ± 7,27	35,73 ± 7,52	31,76 ± 5,51	39,92 ± 5,19	43,44 ± 2,61	40,46 ± 3,85
BLA	4,05 ± 0,72	5,17 ± 0,82	5,77 ± 1,64	4,31 ± 0,80	11,18 ± 2,17	11,73 ± 2,62	11,79 ± 2,06	16,73 ± 2,63	11,91 ± 1,54	11,64 ± 1,45
CeA	5,16 ± 1,73	15,41 ± 3,97	10,20 ± 3,12	10,30 ± 2,14	14,16 ± 2,11	18,03 ± 2,40	28,80 ± 9,09	14,86 ± 2,82	27,00 ± 8,82	14,28 ± 1,93
NST lat	1,38 ± 0,53	1,75 ± 0,42	1,60 ± 0,42	1,68 ± 0,30	3,66 ± 1,36	3,50 ± 0,72	3,48 ± 0,50	4,28 ± 0,53	2,95 ± 0,41	2,15 ± 0,32
NST med	1,45 ± 0,45	12,49 ± 1,68	12,42 ± 1,80	11,17 ± 1,22	20,79 ± 4,04	22,77 ± 3,24	18,75 ± 2,43	22,28 ± 2,86	19,74 ± 2,07	17,35 ± 2,17
NST vent	2,60 ± 0,55	6,07 ± 0,71	5,92 ± 0,84	6,63 ± 0,60	10,53 ± 2,03	10,08 ± 1,55	10,68 ± 1,07	12,24 ± 1,29	10,88 ± 0,79	10,99 ± 0,67
PAG dl	4,61 ± 1,08	12,59 ± 1,85	11,88 ± 1,72	11,48 ± 1,37	14,23 ± 1,43	17,89 ± 1,95	17,20 ± 1,13	18,74 ± 2,44	19,00 ± 2,04	15,04 ± 1,81
PAG vl	6,77 ± 0,91	17,94 ± 2,41	15,13 ± 1,41	17,63 ± 2,44	18,70 ± 2,34	19,38 ± 1,11	20,55 ± 2,86	25,81 ± 2,70	23,01 ± 1,96	19,98 ± 1,95
	Non-Testés	NS Modifié 24h	PA Modifié 24h	UP Modifié 24h	NS Modifié 28j	PA Modifié 28j	UP Modifié 28j	NS Modifié 56j	PA Modifié 56j	UP Modifié 56j
CA1	1,68 ± 0,40	13,54 ± 2,33	16,42 ± 4,20	12,50 ± 2,00	18,93 ± 4,30	19,76 ± 2,21	18,08 ± 2,05	20,50 ± 3,35	13,77 ± 1,62	13,01 ± 3,09
CA3	1,45 ± 0,26	4,70 ± 0,60	5,69 ± 0,72	3,88 ± 0,44	5,84 ± 0,74	5,63 ± 0,54	5,83 ± 0,39	6,89 ± 0,91	5,47 ± 0,57	6,28 ± 0,87
Ento	2,93 ± 0,96	19,26 ± 2,94	21,01 ± 1,63	21,03 ± 2,94	15,89 ± 2,96	23,57 ± 3,48	21,73 ± 4,50	25,61 ± 2,48	21,84 ± 2,04	23,38 ± 2,78
GD	3,64 ± 1,16	5,34 ± 0,73	6,25 ± 1,14	4,61 ± 0,95	7,93 ± 1,72	6,76 ± 0,58	7,25 ± 0,97	8,36 ± 1,32	6,77 ± 0,69	5,98 ± 0,87
vCA1	2,22 ± 0,84	6,09 ± 0,92	8,18 ± 2,13	5,98 ± 0,92	6,21 ± 1,10	11,13 ± 1,23	8,81 ± 1,08	10,89 ± 1,61	12,53 ± 1,25	11,37 ± 1,46
vCA3	1,04 ± 0,50	1,85 ± 0,26	1,63 ± 0,25	1,72 ± 0,40	2,36 ± 0,27	2,77 ± 0,35	2,64 ± 0,61	2,06 ± 0,70	2,10 ± 0,33	2,72 ± 0,29
Subiculum	1,41 ± 0,35	8,32 ± 0,95	10,19 ± 2,87	7,03 ± 1,09	9,38 ± 2,76	15,35 ± 1,67	10,57 ± 2,07	17,25 ± 1,81	16,84 ± 2,74	15,42 ± 1,58
Cg1	2,81 ± 0,88	38,88 ± 8,20	23,40 ± 5,46	36,41 ± 8,55	43,89 ± 13,02	67,73 ± 9,33	52,65 ± 8,92	72,29 ± 12,30	90,11 ± 10,61	67,97 ± 13,66
PRL	2,66 ± 1,62	23,30 ± 5,22	14,08 ± 3,50	20,64 ± 4,38	24,39 ± 4,93	52,60 ± 9,35	43,78 ± 7,01	55,44 ± 8,99	60,35 ± 4,92	59,75 ± 13,01
IL	1,02 ± 0,26	14,41 ± 2,31	13,32 ± 3,91	12,73 ± 1,86	15,58 ± 3,49	38,29 ± 5,10	31,80 ± 6,36	40,11 ± 7,06	45,24 ± 3,30	44,00 ± 5,92
BLA	4,05 ± 0,72	8,19 ± 1,74	7,93 ± 2,29	5,98 ± 1,11	5,92 ± 1,42	10,48 ± 1,44	10,24 ± 1,20	13,43 ± 2,95	15,40 ± 3,00	14,98 ± 2,28
CeA	5,16 ± 1,73	10,09 ± 1,76	15,47 ± 3,57	10,41 ± 1,39	14,31 ± 1,87	14,60 ± 3,15	20,29 ± 3,44	14,13 ± 3,72	13,73 ± 2,43	23,65 ± 5,30
NST lat	1,38 ± 0,53	2,12 ± 0,42	2,38 ± 0,58	1,93 ± 0,40	2,32 ± 0,63	3,46 ± 0,55	2,66 ± 0,39	2,98 ± 0,86	2,57 ± 0,38	2,79 ± 0,82
NST med	1,45 ± 0,45	10,91 ± 1,24	13,53 ± 2,33	12,17 ± 0,98	20,11 ± 2,95	22,52 ± 2,39	25,92 ± 1,30	14,27 ± 3,44	20,26 ± 3,40	23,55 ± 2,68
NST vent	2,60 ± 0,55	7,84 ± 0,90	7,68 ± 1,45	7,71 ± 0,70	7,79 ± 0,47	11,61 ± 1,03	11,96 ± 1,71	9,84 ± 1,76	13,04 ± 2,35	11,14 ± 0,92
PAG dl	4,61 ± 1,08	13,00 ± 1,12	14,19 ± 2,59	12,63 ± 0,98	12,61 ± 1,94	13,83 ± 2,73	16,20 ± 1,33	17,56 ± 2,70	18,65 ± 1,73	17,95 ± 1,99
PAG vl	6,77 ± 0,91	24,89 ± 1,56	22,53 ± 2,99	18,49 ± 2,13	20,89 ± 1,71	21,00 ± 2,32	22,39 ± 1,51	21,64 ± 2,48	22,87 ± 2,41	22,46 ± 1,75

**Tableau 2** : Nombre de cellules c-Fos positives (moyennes ± erreurs-types) obtenues dans chacune des structures pour les différents groupes expérimentaux. Abréviations : NS = non-conditionnés ; PA = groupes conditionnés avec un protocole d'appariement ; UP = groupes conditionnés avec un protocole de non-appariement ; Cond = réexposition au contexte de conditionnement ; Modifié = exposition au contexte modifié. Les cases oranges indiquent les niveaux basaux des témoins non-testés. Statistiques : les cases violettes indiquent une absence de différence significative à ce groupe témoin non-testé ( $p > 0,05$ ) ; les cases roses indiquent une tendance à la significativité ( $p < 0,06$ ).

Ce tableau semble indiquer une activité significativement plus marquée que chez les témoins non testés dans la plupart des structures à l'étude, exceptées le gyrus denté, l'hippocampe ventral ainsi que les noyaux amygdaliens. De telles absences d'activité sont constatées principalement au délai le plus court. A ce délai, elles sont observées dans l'ensemble des groupes exposés à l'un ou l'autre des contextes dans le gyrus denté, le CA3 de l'hippocampe ventral et la division latérale du NST. Une absence d'activité du noyau basolatéral de l'amygdale est également constatée lors de l'exposition au contexte de conditionnement à ce délai, tout comme une absence de différence significative au niveau du CA1 de l'hippocampe ventral uniquement chez les animaux conditionnés exposés à ce

contexte. Chez les animaux conditionnés avec un protocole de non-appariement, on retrouve une absence d'activité du noyau basolatéral de l'amygdale dans le contexte modifié.

A un délai de 28 jours, une absence d'activité du gyrus denté et du CA3 de l'hippocampe ventral n'est observée que chez les animaux conditionnés exposés au contexte de conditionnement. Les animaux conditionnés avec un protocole de non-appariement exposés au contexte modifié, ainsi que les groupes non-conditionnés exposés aux deux contextes présentent une absence d'activité du NST latéral. Ces derniers témoins sont les seuls à présenter une absence d'activité du noyau basolatéral de l'amygdale, et ce spécifiquement lorsqu'ils sont l'exposés au contexte modifié.

Au dernier délai, l'absence d'activité de la division latérale du NST est encore manifeste chez les animaux conditionnés avec un protocole de non-appariement, quel que soit le contexte d'exposition. Ces animaux, lorsqu'exposés au contexte modifié, ne présentent pas d'activité dans le gyrus denté. Une activation du NST latéral chez les animaux conditionnés avec un protocole d'appariement n'apparaît que de manière quasi-significative dans le contexte modifié. Une absence d'activité est également rapportée dans le CA3 ventral chez ces animaux ainsi que les témoins non-conditionnés, lorsqu'exposés au contexte modifié.

### 3.4. Modélisation par analyse factorielle des résultats immunohistochimiques

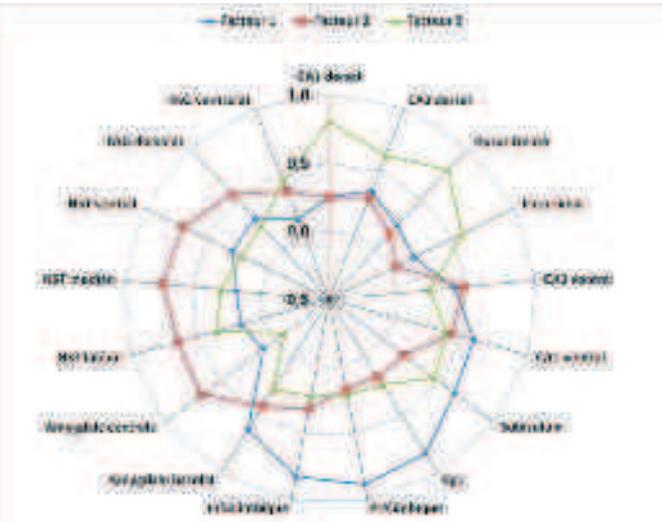
Une solution à trois facteurs est apparue comme la plus adaptée suite à l'analyse factorielle de l'ensemble des données, comme le montre le tableau 3. Un tel modèle permet de rendre compte de plus de la moitié de la variance observée dans les données immunohistochimiques (60,76 %).

	valeur propre	% variance	valeurs propres cumulées	% variance cumulée
Facteur 1	7,893760	46,43388	7,89376	46,43388
Facteur 2	1,273049	7,48852	9,16681	53,92240
Facteur 3	1,162267	6,83686	10,32907	60,75926

**Tableau 3** : Valeur propre associée à chacun des facteurs retenus pour l'analyse factorielle et pourcentage supplémentaire de variance des données expliqué par l'ajout de chacun de ces facteurs.

Les facteurs extraits mettent en exergue trois ensembles fonctionnels généralement activés de manière cohérente suite aux expositions (les structures les composant étant fortement corrélées à chacun des facteurs, Fig 8). De manière fort intéressante, l'analyse (exploratoire, ne partant pas d'hypothèses *a priori* sur les regroupements à effectuer) met en évidence trois ensembles ayant été décrits ci-dessus comme pouvant constituer des « sous-circuits » impliqués dans le traitement de différentes facettes de l'expression de la peur conditionnée. Le premier facteur recouvre principalement les zones cortex préfrontal médian et le noyau basolatéral de l'amygdale ainsi que le CA1 et l'hippocampe ventral, le second correspond à l'amygdale centrale et au NST, et le troisième comprend l'hippocampe dorsal et le cortex entorhinal. La propriété d'orthogonalité des facteurs extraits par analyse factorielle suggère donc que les structures regroupées par chacun des facteurs présentent des niveaux d'activation conjoints généralement corrélés, tandis que les trois ensembles mis en évidence présenteraient une certaine indépendance dans leur recrutement au cours des séances de test. Néanmoins, un certain nombre de variables semblent se rapporter de manière transversale à différents facteurs. De manière intéressante, les structures en question sont directement connectées, d'un point de vue neuroanatomique, aux deux ensembles auxquels elles se rapportent : l'hippocampe ventral (CA3 + CA1) et le noyau basolatéral de l'amygdale présentent à la fois des poids non négligeables sur les facteurs 1 (cortex préfrontal médian) et 2 (amygdale étendue). De même, le subiculum ventral semble présenter un patron d'activité cohérent à la fois avec l'activité du facteur 1 et du facteur 3 (hippocampe dorsal et cortex entorhinal). Nous noterons toutefois que les divisions de la PAG ne présentent de poids factoriels dépassant un critère de 0,6 sur aucun facteur.

	Facteur 1	Facteur 2	Facteur 3
CA1 dorsal	0,25	0,25	<b>0,81</b>
CA3 dorsal	0,35	0,29	<b>0,63</b>
Gyrus Denté	0,23	0,15	<b>0,78</b>
Entorhinal	0,19	0,04	<b>0,57</b>
CA3 ventral	<b>0,41</b>	<b>0,48</b>	0,23
CA1 ventral	<b>0,59</b>	<b>0,42</b>	0,38
Subiculum	<b>0,64</b>	0,18	<b>0,46</b>
Cg1	<b>0,83</b>	0,17	0,24
Prélimbique	<b>0,88</b>	0,17	0,21
Infralimbique	<b>0,82</b>	0,32	0,22
Amygdale basolat	<b>0,62</b>	<b>0,42</b>	0,27
Amygdale centrale	0,10	<b>0,66</b>	-0,08
NST latéral	0,17	<b>0,64</b>	0,35
NST median	0,18	<b>0,72</b>	0,29
NST ventral	0,29	<b>0,69</b>	0,21
PAG dorsolat	0,31	<b>0,54</b>	0,23
PAG ventrolat	0,13	0,35	<b>0,43</b>



**Figure 8** : Tableau et représentation graphique des poids factoriels des variables expérimentales aux facteurs issus de l'analyse factorielle. Les poids importants (> 0,6) sont indiqués en rouge, les poids intermédiaires (entre 0,4 et 0,6) sont indiqués en orange.

Néanmoins, un tel modèle doit faire l'objet d'une série de vérifications avant toute interprétation tirée de ces ensembles comme représentatifs de chacune des variables les constituant. L'observation de la matrice des résidus de corrélations permet de mettre en évidence la manière dont l'analyse, pour aboutir à un modèle cohérent, a dû mésestimer les corrélations existant entre différentes variables. Cette matrice représente en effet la différence entre les corrélations observées entre les variables mesurées et celles prédites par le modèle.

Les tableaux 4 et 5 représentent la matrice de corrélation observée, calculée sur la base des données brutes, ainsi que la matrice des résidus, qui correspond à la différence entre les corrélations observées et celles reproduites par un modèle à trois facteurs. Y sont figurés les corrélations non-significatives ainsi que les résidus les plus importants, représentant une sous-estimation (> 0,1) ou une surestimation (< -0,1).

Matrice de corrélations	CA1	CA3	GD	Ento	vCA3	vCA1	Subiculum	Cg1	PRL	IL	BLA	CeA	BNST lat	BNST med	BNST vent	PAG dl	PAG vl
CA1	1,00	0,66	0,67	0,40	0,32	0,51	0,46	0,47	0,48	0,46	0,40	0,24	0,45	0,39	0,28	0,39	0,38
CA3	0,66	1,00	0,55	0,30	0,46	0,45	0,54	0,52	0,57	0,54	0,49	0,34	0,44	0,46	0,43	0,49	0,42
GD	0,67	0,55	1,00	0,27	0,22	0,50	0,45	0,44	0,45	0,48	0,37	0,10	0,24	0,27	0,33	0,28	0,26
Ento	0,40	0,30	0,27	1,00	0,23	0,33	0,38	0,22	0,25	0,34	0,30	0,15	0,16	0,21	0,18	0,15	0,29
vCA3	0,32	0,46	0,22	0,23	1,00	0,51	0,46	0,47	0,47	0,52	0,42	0,27	0,35	0,46	0,39	0,35	0,19
vCA1	0,51	0,45	0,50	0,33	0,51	1,00	0,62	0,55	0,61	0,73	0,68	0,31	0,40	0,44	0,49	0,41	0,38
Subiculum	0,46	0,54	0,45	0,38	0,46	0,62	1,00	0,56	0,62	0,64	0,59	0,21	0,26	0,29	0,22	0,26	0,33
Cg1	0,47	0,52	0,44	0,22	0,47	0,55	0,56	1,00	0,87	0,73	0,59	0,16	0,34	0,43	0,41	0,38	0,26
PRL	0,48	0,57	0,45	0,25	0,47	0,61	0,62	0,87	1,00	0,83	0,59	0,26	0,36	0,42	0,34	0,40	0,31
IL	0,46	0,54	0,48	0,34	0,52	0,73	0,64	0,73	0,83	1,00	0,66	0,34	0,43	0,46	0,44	0,47	0,32
BLA	0,40	0,49	0,37	0,30	0,42	0,68	0,59	0,59	0,59	0,66	1,00	0,37	0,44	0,48	0,51	0,29	0,27
CeA	0,24	0,34	0,10	0,15	0,27	0,31	0,21	0,16	0,26	0,34	0,37	1,00	0,42	0,35	0,31	0,30	0,34
BNST lat	0,45	0,44	0,24	0,16	0,35	0,40	0,26	0,34	0,36	0,43	0,44	0,42	1,00	0,59	0,52	0,40	0,38
BNST med	0,39	0,46	0,27	0,21	0,46	0,44	0,29	0,43	0,42	0,46	0,48	0,35	0,59	1,00	0,64	0,49	0,25
BNST vent	0,28	0,43	0,33	0,18	0,39	0,49	0,22	0,41	0,34	0,44	0,51	0,31	0,52	0,64	1,00	0,39	0,19
PAG dl	0,39	0,49	0,28	0,15	0,35	0,41	0,26	0,38	0,40	0,47	0,29	0,30	0,40	0,49	0,39	1,00	0,39
PAG vl	0,38	0,42	0,26	0,29	0,19	0,38	0,33	0,26	0,31	0,32	0,27	0,34	0,38	0,25	0,19	0,39	1,00

Résidus	CA1	CA3	GD	Ento	vCA3	vCA1	Subiculum	Cg1	PRL	IL	BLA	CeA	BNST lat	BNST med	BNST vent	PAG dl	PAG vl
CA1	0,29	-0,01	0,06	-0,10	0,02	-0,01	-0,07	0,02	-0,01	-0,06	-0,03	-0,07	0,06	0,06	0,01	-0,06	-0,19
CA3	-0,01	0,37	0,00	-0,13	0,05	-0,14	0,00	0,01	0,01	-0,06	-0,03	-0,04	-0,06	-0,01	0,02	0,01	-0,09
GD	0,06	0,00	0,44	-0,18	-0,05	0,02	-0,10	-0,02	-0,08	-0,05	-0,02	-0,07	0,00	0,05	0,15	-0,04	-0,18
Ento	<b>-0,10</b>	<b>-0,13</b>	<b>-0,18</b>	0,62	0,08	-0,01	-0,01	-0,07	-0,05	0,02	0,05	0,01	-0,02	0,08	0,09	-0,09	-0,09
vCA1	0,02	<b>0,05</b>	-0,05	0,08	0,51	0,00	0,03	-0,08	-0,09	-0,07	-0,12	-0,02	-0,06	-0,03	-0,08	-0,01	0,02
vCA3	-0,01	-0,14	0,02	-0,01	0,00	0,35	0,03	-0,12	-0,12	-0,02	0,05	0,01	-0,04	-0,05	0,02	-0,03	0,06
Subiculum	-0,07	0,00	-0,10	-0,01	0,03	0,03	0,36	-0,11	-0,12	-0,06	0,04	0,09	0,01	-0,01	-0,04	-0,05	0,06
Cg1	0,02	0,01	-0,02	-0,07	-0,08	<b>-0,12</b>	<b>-0,11</b>	0,26	0,09	-0,04	-0,07	-0,02	0,02	0,01	-0,01	0,05	0,06
PRL	-0,01	0,01	-0,08	-0,05	-0,09	<b>-0,12</b>	<b>-0,12</b>	0,09	0,25	0,08	-0,10	0,05	0,04	0,00	-0,08	0,06	0,06
IL	-0,06	-0,06	-0,05	0,02	-0,07	-0,02	-0,06	-0,04	0,08	0,22	-0,06	0,06	0,03	-0,05	-0,05	0,07	0,04
BLA	-0,03	-0,03	-0,02	0,05	<b>-0,12</b>	0,05	0,04	-0,07	-0,10	-0,06	0,37	0,09	0,00	-0,05	0,00	-0,11	0,03
CeA	-0,07	-0,04	-0,07	0,01	-0,02	0,01	0,09	-0,02	0,05	0,06	0,09	0,57	-0,10	-0,16	-0,15	-0,12	-0,01
BNST lat	0,06	-0,06	0,00	-0,02	-0,06	-0,04	0,01	0,02	0,04	0,03	0,00	-0,10	0,35	-0,05	-0,07	-0,13	-0,04
BNST med	0,06	-0,01	0,05	0,08	-0,03	-0,05	-0,01	0,01	0,00	-0,05	-0,05	<b>-0,16</b>	-0,05	0,30	0,00	-0,03	-0,07
BNST vent	0,01	0,02	<b>0,15</b>	0,09	-0,08	0,02	-0,04	-0,01	-0,08	-0,05	0,00	<b>-0,15</b>	-0,07	0,00	0,36	-0,09	-0,06
PAG dl	-0,06	0,01	-0,04	-0,09	-0,01	-0,03	-0,05	0,05	0,06	0,07	<b>-0,11</b>	<b>-0,12</b>	<b>-0,13</b>	-0,03	-0,09	0,55	-0,02
PAG vl	<b>-0,19</b>	-0,09	<b>-0,18</b>	-0,09	0,02	0,06	0,06	0,06	0,06	0,04	0,03	-0,01	-0,04	-0,07	-0,06	-0,02	0,47

**Tableaux 4 et 5 :** Matrices de corrélation des données brutes et matrice des résidus du modèle à trois facteurs (différence entre les corrélations observées et les corrélations prédites par le modèle). Les résidus importants (de valeur absolue > 0,10) sont indiqués en rouge : une valeur positive indique une sous-estimation de la corrélation observée, et une valeur négative une surestimation. Les cases violettes indiquent des corrélations observées non-significatives.

La matrice de corrélation des données observées indique que la plupart des corrélations observées atteignent la significativité, exceptées pour le noyau central de l'amygdale, dont le nombre de neurones c-Fos positifs n'est pas corrélé à ceux du gyrus denté, du cortex cingulaire antérieur et du cortex entorhinal. Notons que le modèle fixe cette dernière corrélation comme égale à zéro.

Au sein des ensembles structurels dégagés par l'analyse, quelques corrélations semblent faire l'objet d'une surestimation. Pour pouvoir prendre en compte ces surestimations dans l'interprétation faite de la dynamique de recrutement des différents ensembles décrits par les facteurs, les corrélations concernées ont été calculées pour chacune des conditions expérimentales afin d'isoler les cas où il devait y avoir « décrochage » de l'une des structures par rapport à l'ensemble. Sur un total de 30 corrélations entre des structures associées aux mêmes facteurs, huit sont surestimées par le modèle, la plupart de ces surestimations ne dépassant généralement que de peu le seuil de 0,1.

Dans le premier ensemble, ces surestimations concernent les corrélations du cortex cingulaire antérieur avec les structures de l'hippocampe ventral (subiculum et CA1, surestimées de 0,1 comme égales à 0,65).

Dans le second facteur, les corrélations du noyau central de l'amygdale avec les noyaux médian et latéral du noyau de la strie terminale (surestimées de 0,2 comme égale à 0,5) ainsi que la corrélation entre ces derniers noyaux (surestimée de 0,1 comme égale à 0,6) sont surestimées.

Dans le troisième facteur, les corrélations du cortex entorhinal avec le gyrus denté et le CA1 dorsal (surestimées respectivement de 0,15 et 0,2 comme toutes deux égales à 0,5) sont surestimées.

D'autres surestimations sont rapportées, mais ne se rattachent pas à l'un ou l'autre des facteurs. De plus, les corrélations en question concernent des structures cérébrales n'étant pas directement connectées. Ces surestimations portent donc moins à conséquence sur des interprétations ultérieures en termes de connectivité fonctionnelle intra- et inter-facteurs. Il s'agit des corrélations entre CA3 dorsal et CA1 ventral (surestimée de 0,1 comme égale à 0,6) ; le cortex entorhinal et le noyau central de l'amygdale (surestimée de 0,1 comme égale à 0,2) ; la PAG ventrolatérale et le gyrus denté (surestimée de 0,1 comme égale à 0,4) comme le CA3 ventral (surestimée de 0,1 comme égale à 0,3) ; la PAG dorsolatérale et le noyau basolatéral de l'amygdale (surestimée de 0,15 comme égale à 0,5).

Une autre estimation de la validité du modèle consiste en l'analyse des communautés, qui correspondent à la proportion de la variance de chacune des variables expliquée par le modèle. Une communauté égale à un signifie que le modèle (et les corrélations qu'il suppose) permet d'expliquer la totalité de la variance observée dans la structure en question. Un écart à 1 peut venir signifier une variabilité intrinsèque à l'activité de cette structure, voire l'influence résiduelle de structures cérébrales n'ayant pas été prises en compte dans le modèle. La communauté tend à augmenter avec le nombre de facteurs conservés : c'est en effet sur la base des résidus d'un facteur que s'opère le calcul du facteur suivant. Ces communautés sont représentées dans le tableau 6 : le modèle à trois facteurs correspond à la dernière colonne, qui représente la différence entre les diagonales des matrices de corrélations observées et celle des résidus.

Communauté	1 facteur	2 facteurs	3 facteurs
CA1 dorsal	0,06	0,13	0,77
CA3 dorsal	0,12	0,21	0,61
Gyrus Denté	0,05	0,08	0,69
Entorhinal	0,04	0,04	0,37
CA3 ventral	0,17	0,40	0,46
CA1 ventral	0,35	0,53	0,67
Subiculum	0,41	0,44	0,65
Cg1	0,68	0,71	0,77
Prélimbique	0,77	0,80	0,85
Infralimbique	0,68	0,78	0,83
Amygdale basolat	0,39	0,57	0,64
Amygdale centrale	0,01	0,45	0,46
NST latéral	0,03	0,44	0,57
NST median	0,03	0,55	0,63
NST ventral	0,08	0,56	0,61
PAG dorsolat	0,09	0,38	0,44
PAG ventrolat	0,02	0,14	0,33

**Tableau 6** : Représentation des communautés de chaque variable, correspondant à la différence entre la variance standardisée de chacune de ces variables (=1) et la proportion de variance n'étant pas expliquée par le modèle corrélatif (variance résiduelle correspondant à la diagonale de la figure précédente). Un score proche de un indique que le modèle permet de rendre compte d'une partie importante de l'activité dans cette structure.

Le modèle à trois facteurs semble expliquer plus de la moitié des variations dans le nombre de cellules marquées dans la plupart des structures à l'étude. Un tel modèle permet également d'expliquer au mieux la variance observée dans les variables les plus « hybrides » entre différents facteurs. Seules les activités des subdivisions ventrolatérale (30%) et dorsolatérale (40%) de la PAG ainsi que du cortex entorhinal (40%) semblent mal expliquées

par ce modèle.

Malgré ces résultats pouvant suggérer que des structures cérébrales non incluses à cette étude puissent avoir eu une influence sur l'activité neuronale dans nos structures d'intérêt, la compression des données observées dans un modèle à trois facteurs semble tout de même capable de rendre compte d'une proportion non négligeable de l'activité observée. Ajouté aux faits que moins du tiers des corrélations effectives semble faire l'objet d'une mésestimation, plus ou moins marquée, et que les facteurs révélés s'avèrent fort compréhensibles d'un point de vue théorique, le modèle à trois facteurs apparaît donc approprié en vue d'une description simplifiée de la dynamique de recrutement de ces ensembles cérébraux.

Néanmoins, un ensemble convergent d'indicateurs pointent la mauvaise représentation par ce modèle de l'activité du cortex entorhinal. En effet, en plus de présenter une activité majoritairement liée à des causes externes au modèle, il ne présente des corrélations avec les autres structures du facteur 3 que dans des conditions très spécifiques. Du fait de sa mauvaise représentation par le modèle, les modifications de son activité (estimée par les données brutes) en lien aux conditions expérimentales ont été évaluées séparément par une ANOVA à trois facteurs (Protocole, Délai et Contexte). Celle-ci révèle des effets significatifs sur l'activité du cortex entorhinal du facteur Protocole ( $F_{2,156} = 4$  ;  $p < 0,05$ ), du facteur Délai ( $F_{2,156} = 3,7$  ;  $p < 0,05$ ) ainsi qu'une interaction entre les facteurs Protocole et Contexte ( $F_{2,156} = 6,8$  ;  $p < 0,01$ ). Les analyses *post-hoc* effectuées sur cette dernière interaction indiquent un niveau d'activité supérieur dans le contexte modifié chez les animaux conditionnés avec un protocole de non-appariement, tandis que les animaux non-conditionnés présentent une activité de cette structure plus marquée dans le contexte de conditionnement.

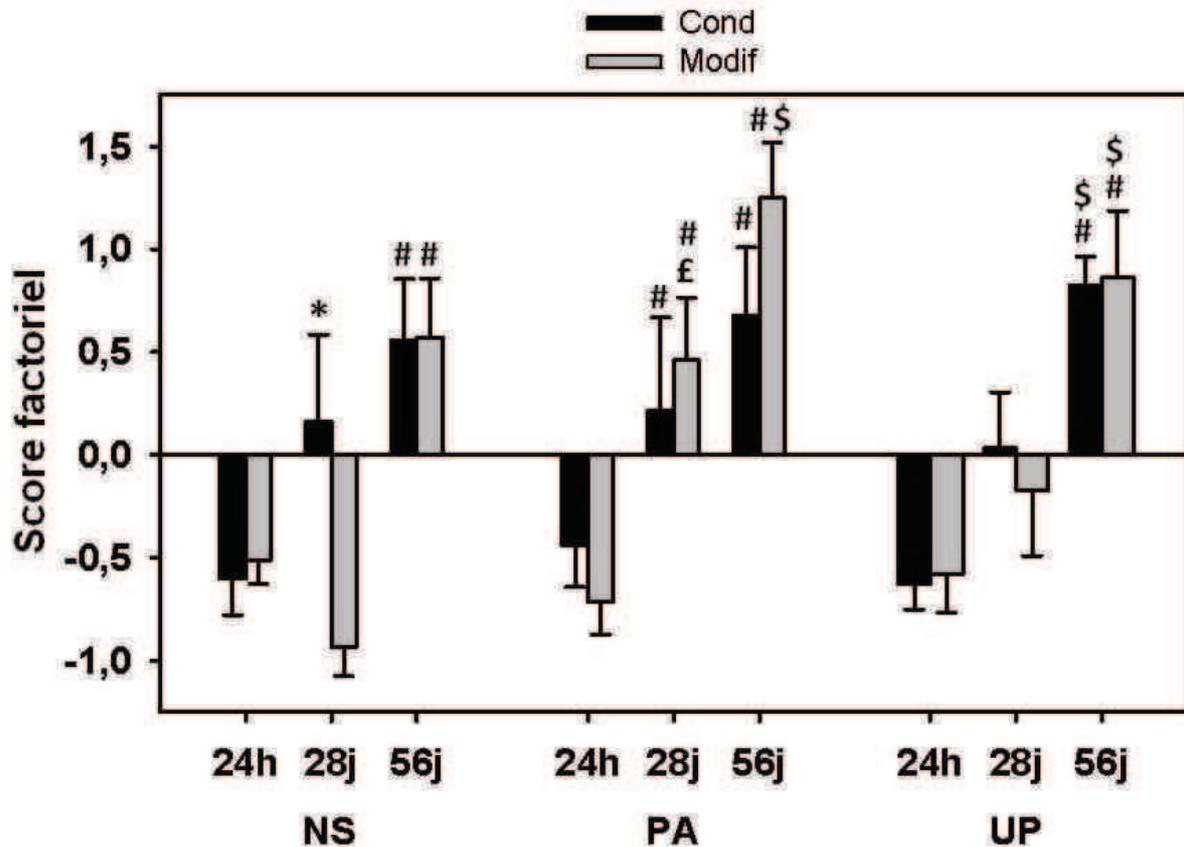
### *3.5.Effet des conditions expérimentales sur les scores factoriels*

Les scores factoriels ont été dérivés par application aux scores standardisés (de chaque animal pour chaque variable observée) de coefficients de pondération, pour pouvoir situer la position de chaque sujet sur les facteurs retenus, et permettre ainsi la comparaison des groupes expérimentaux pour chacun des facteurs. Ces coefficients sont récapitulés dans le tableau 7.

Coefficients:	Facteur 1	Facteur 2	Facteur 3
CA1 dorsal	-0,10	-0,08	<b>0,38</b>
CA3 dorsal	-0,08	0,00	<b>0,27</b>
Gyrus Denté	-0,05	-0,16	<b>0,37</b>
Entorhinal	-0,13	-0,06	<b>0,34</b>
CA3 ventral	0,10	0,11	-0,09
CA1 ventral	<b>0,17</b>	0,00	-0,03
Subiculum	<b>0,19</b>	-0,15	0,08
Cg1	<b>0,32</b>	-0,13	-0,11
Prélimbique	<b>0,34</b>	-0,13	-0,13
Infralimbique	<b>0,26</b>	-0,03	-0,11
Amygdale basolat	<b>0,19</b>	0,04	-0,10
Amygdale centrale	-0,10	<b>0,38</b>	-0,15
NST latéral	-0,16	<b>0,29</b>	0,08
NST median	-0,09	<b>0,32</b>	-0,04
NST ventral	-0,04	<b>0,29</b>	-0,08
PAG dorsolat	-0,07	<b>0,23</b>	0,01
PAG ventrolat	-0,16	0,11	0,22

**Tableau 7** : Coefficients des scores factoriels. Le calcul du score factoriel de chaque animal pour chaque facteur correspond à la somme des scores standardisés de chaque animal sur chaque variable pondérés par ces coefficients. Ces pondérations sont de signe et d'intensité assimilables (mais pas identiques) aux poids factoriels des variables sur chacun des facteurs.

La figure 9 montre les scores des différents groupes expérimentaux sur le premier facteur (cortex préfrontal médian, amygdale basolatérale et hippocampe ventral).

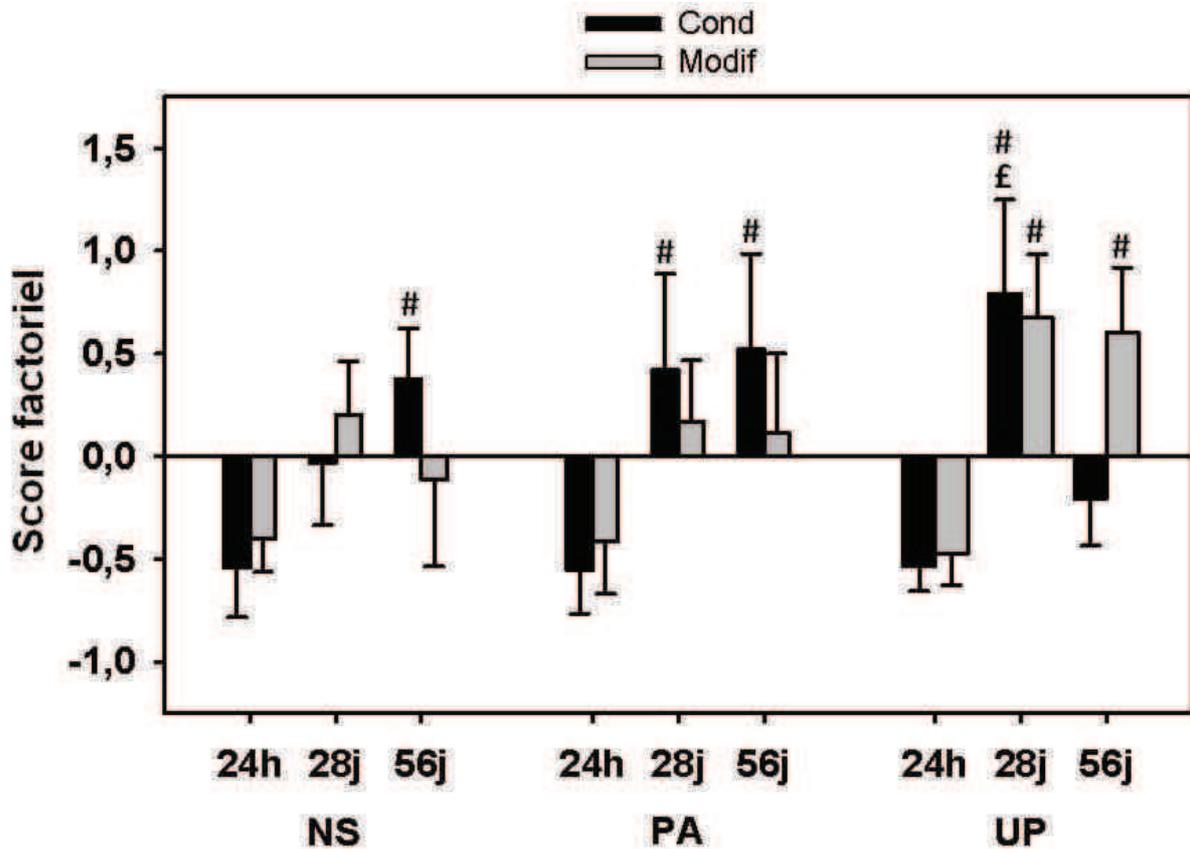


**Figure 9** : Scores factoriels moyens (+ ou - erreurs-types) des groupes expérimentaux sur le Facteur 1. Abréviations : Cond = contexte de conditionnement ; Modif = contexte modifié ; NS = témoins non-conditionnés ; PA = animaux conditionnés avec un protocole d'appariement ; UP = animaux conditionnés avec un protocole de non-appariement. Statistiques : \* = différent du contexte modifié ; # = différent du délai de 24h ; \$ = différent du délai de 28j ; £ = différent des témoins non-conditionnés ; tous les  $p < 0,05$ .

L'observation de cette figure montre que les scores sont faibles et comparables entre les groupes au délai de 24 heures et suggère principalement une augmentation des scores factoriels au délai le plus long, quels que soient le protocole et le contexte de test. Cependant, cette augmentation semble plus précoce chez les animaux conditionnés et exposés au contexte modifié, particulièrement ceux conditionnés avec le protocole d'appariement. Aucune différence notable liée à l'exposition à l'un ou l'autre des contextes n'est cependant apparente dans les groupes soumis au même protocole à l'observation de cette figure, à l'exception d'une plus faible activation au délai de 28 jours chez les animaux témoins non-conditionnés exposés au contexte modifié. L'ANOVA confirme un effet significatif du facteur Délai ( $F_{2,159}$

= 41,71 ;  $p < 0,001$ ) et un effet quasi-significatif du facteur Protocole ( $F_{2,159} = 2,87$  ;  $p = 0,06$ ) mais pas du facteur Contexte ( $F_{1,159} = 0,26$  ;  $p > 0,05$ ) ni des interactions entre ces facteurs ( $F_{\max} = 1,57$ ). Les comparaisons *post-hoc* indiquent cependant un ensemble de différences (tous les  $p < 0,05$ ) qui tendent à confirmer les observations faites. Ainsi, au délai de 56 jours, l'ensemble des groupes présente des scores plus importants qu'au délai de 24 heures. Ces scores sont également plus élevés qu'à 28 jours, dans les deux contextes pour les groupes UP et dans le contexte modifié pour les groupes PA. Dans ces groupes, les scores factoriels sont également plus élevés au délai de 28 jours qu'au délai de 24 heures, quel que soit le contexte. A 28 j, le score factoriel du groupe NS est inférieur dans le contexte modifié par rapport au contexte de conditionnement, et inférieur à celui obtenu dans le même contexte, chez les animaux du groupe PA.

Les scores factoriels des différents groupes sur le second facteur (noyau central de l'amygdale, NST et PAG dorsolatéral) sont représentés à la figure 10.

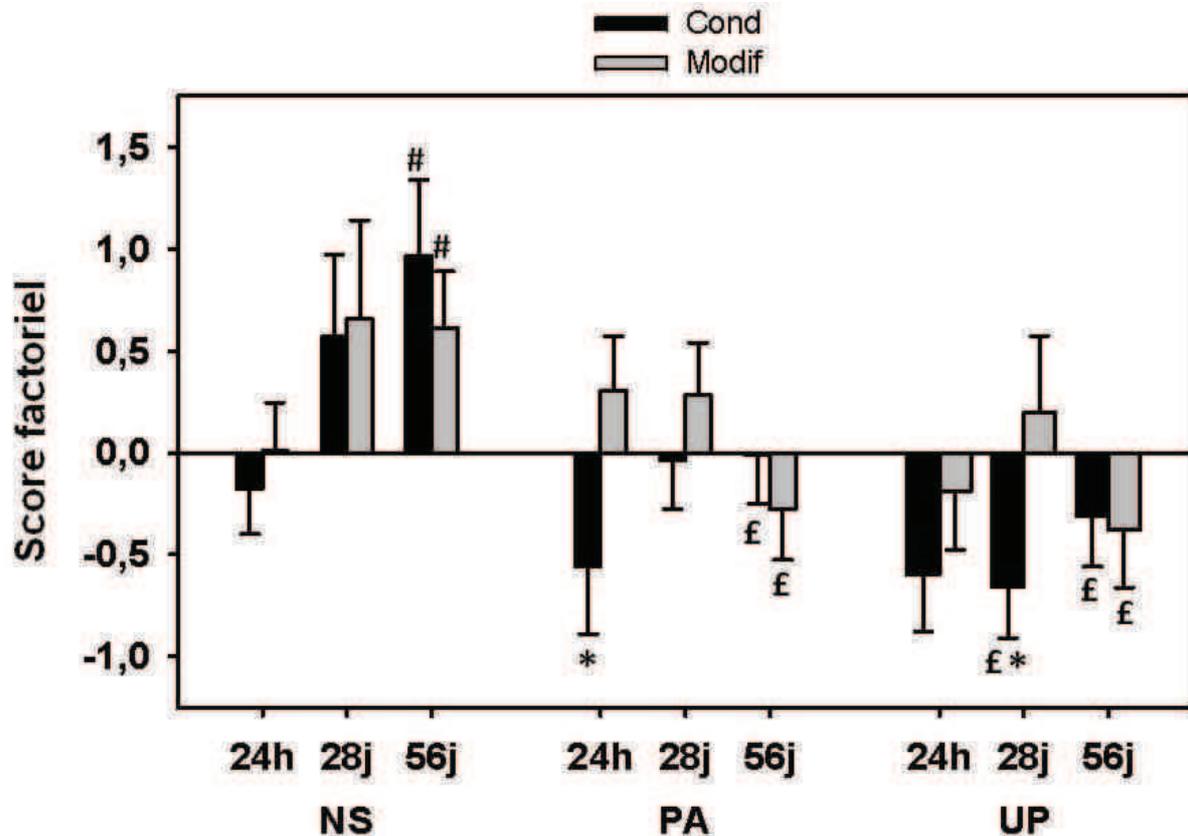


**Figure 10** : Scores factoriels moyens (+ ou - erreurs-types) des groupes expérimentaux sur le Facteur 2. Abréviations : Cond = contexte de conditionnement ; Modif = contexte modifié ; NS = témoins non-conditionnés ; PA = animaux conditionnés avec un protocole d'appariement ; UP = animaux conditionnés avec un protocole de non-appariement. Statistiques : # = différent du délai de 24h ; £ = différent des témoins non-conditionnés ; tous les  $p < 0,05$ .

L'observation de cette figure montre que les niveaux d'activation sont faibles et comparables entre les groupes au délai de 24 heures et suggère une augmentation des scores factoriels avec le délai, sans différences notables entre les contextes pour un même délai, mais qui semble nuancée en fonction du contexte d'exposition et du protocole utilisé (NS, PS ou UP). Dans les groupes témoins non-conditionnés (NS), cet effet du délai semble présent uniquement dans le contexte de conditionnement. Dans les groupes conditionnés avec un protocole d'appariement (PA), cet effet semble également plus marqué dans le contexte de conditionnement et d'apparition plus précoce que dans le groupe témoin non-conditionné. Enfin, dans les groupes conditionnés avec un protocole de non-appariement (UP), cette augmentation est très marquée

au délai de 28 jours et s'observe dans les deux contextes. Cependant, elle ne semble plus concerner que le groupe exposé au contexte modifié au délai de 56 jours. L'ANOVA indique un effet significatif du facteur Délai ( $F_{2,159} = 14,8$  ;  $p < 0,001$ ) mais pas des facteurs Contexte ( $F_{1,159} = 0,26$  ;  $p > 0,05$ ) et Protocole ( $F_{1,159} = 0,26$  ;  $p > 0,05$ ), ni des interactions entre ces facteurs ( $F_{\max} = 1,2$ ). Les analyses *post-hoc* indiquent cependant des différences significatives ( $p < 0.05$  dans tous les cas) appuyant la description faite de ces résultats. Ainsi, les scores factoriels sont plus importants au délai de 56 jours qu'au délai de 24 heures dans le groupe NS exposé au contexte de conditionnement. Dans les groupes PA, les scores factoriels sont également plus importants dans le contexte de conditionnement à ce délai qu'au délai de 24 heures, mais ils y sont également plus importants dès le délai de 28 jours. Enfin, dans les groupes UP, les scores factoriels obtenus dans le contexte modifié sont plus importants aux délais de 28 et de 56 jours qu'au délai de 24 heures, alors que dans le contexte de conditionnement, ils ne sont plus importants que ceux obtenus au délai de 24 heures, qu'au délai de 28 jours. De plus, à ce dernier délai, le score factoriel de ce groupe UP est plus important que celui du groupe NS testé dans les mêmes conditions.

La figure 11 représente les scores factoriels des différents groupes sur le facteur 3 (hippocampe dorsal et cortex entorhinal).



**Figure 11** : Scores factoriels moyens (+ ou - erreurs-types) des groupes expérimentaux sur le Facteur 3. Abréviations : Cond = contexte de conditionnement ; Modif = contexte modifié ; NS = témoins non-conditionnés ; PA = animaux conditionnés avec un protocole d'appariement ; UP = animaux conditionnés avec un protocole de non-appariement. Statistiques : \* = différent du contexte modifié ; # = différent du délai de 24h ; £ = différent des témoins non-conditionnés ; tous les  $p < 0,05$ .

L'observation de cette figure suggère une absence de modification notable des scores factoriels de ces régions au cours du temps chez les animaux conditionnés (PA et UP). Elle semble plutôt indiquer que ce soient les animaux témoins (NS) qui présentent une telle dynamique indépendamment du contexte d'exposition, puisqu'ils présentent des scores de plus en plus élevés avec le délai, jusqu'à atteindre des niveaux très supérieurs à ceux des animaux conditionnés. L'ANOVA confirme ce dernier point en indiquant un effet significatif du facteur Protocole ( $F_{2,159} = 9,9$  ;  $p < 0,001$ ), un effet quasi-significatif du facteur Délai ( $F_{2,159} = 2,7$  ;  $p = 0,07$ ) et de l'interaction Délai x Contexte ( $F_{2,159} = 2,5$  ;  $p = 0,09$ ) et une absence d'effet du facteur Contexte ( $F_{1,159} = 2,5$  ;  $p > 0,05$ ) et des autres interactions ( $F_{\max} =$

1,5). Les analyses *post-hoc* indiquent un niveau d'activité plus important à 56 jours qu'à 24 heures dans les deux contextes ( $p < 0,05$  dans chaque cas) dans les groupes NS, et confirment l'absence de différences liées au délai dans les groupes conditionnés. Elles indiquent également qu'au délai de 56 jours, les scores factoriels des groupes conditionnés sont moins important que ceux obtenus dans les groupes NS testés dans les mêmes conditions ( $p < 0,05$  pour chacune des comparaisons) et qu'une telle différence est également retrouvée au délai de 28 jours, mais uniquement dans le groupe UP exposé au contexte de conditionnement. L'observation de cette figure suggère également que dans les groupes conditionnés, les scores factoriels sont moins importants dans le contexte de conditionnement que dans le contexte modifié aux deux délais courts, une observation confirmée cependant uniquement au délai de 24 heures dans le groupe PA ( $p < 0.05$ ) et au délai de 28 jours dans le groupe UP ( $p < 0.05$ ).

#### 4. *Discussion*

##### 4.1. *Données comportementales*

Pour chacun des protocoles de conditionnement, l'obtention de niveaux de peur équivalents à la fin de la séance de conditionnement quels que soient le contexte et le délai de test ultérieurs nous permet de discuter les différences d'expression de la peur en termes d'âge de la trace mnésique et de type de contexte d'exposition. En effet, une absence d'effet des variables expérimentales est obtenue chez les animaux conditionnés à un contexte en arrière-plan (groupes PA), et les seules différences observées chez les groupes conditionnés à un contexte en avant-plan (groupes UP) concernent l'administration des premiers chocs. Le fait que le groupe UP testé à 28 jours présente les plus hauts niveaux de peur après les premiers chocs (Figure 4) pourrait être considéré comme un facteur parasite, des animaux apprenant plus vite ou plus sensibles aux chocs pouvant potentiellement présenter des mécanismes d'habituation à ce stimulus aversif. Néanmoins, le fait que ces animaux ne diffèrent pas des groupes testés aux autres délais après l'administration des derniers chocs, ne présentant donc pas de réduction de la peur, suggère que de tels processus d'habituation ne soient pas mis en place, et donc que le conditionnement soit bien équivalent entre tous les groupes à la fin de la séance, l'ensemble des animaux atteignant un niveau asymptotique. De plus, l'observation chez ces animaux, lors des tests, de niveaux de peur intermédiaires aux deux autres délais suggère que l'effet du délai ne puisse pas être expliqué par cette seule différence liée aux premiers chocs.

##### *La généralisation de la peur conditionnée : une perte en détails du souvenir ?*

Dans les groupes conditionnés avec un protocole de non-appariement (UP) amenant à un conditionnement au contexte en avant-plan, nos résultats (Figure 5) montrent que la peur conditionnée au contexte est importante à un délai de 24 heures, en accord avec les données de la littérature (Hall et al., 2001 ; Majchrzak et al., 2006 ; Calandreau et al., 2007). A ce délai, les niveaux de peur sont cependant plus élevés dans le contexte de conditionnement que dans le contexte modifié, suggérant une discrimination effective des deux contextes, conformément aux travaux antérieurs (Biedenkapp & Rudy, 2007 ; Wiltgen & Silva, 2007).

Chez les animaux conditionnés avec un protocole d'appariement (PA) amenant à un conditionnement au contexte en arrière-plan, nos résultats montrent que la peur conditionnée à ce dernier est de faible niveau au délai le plus court, ici aussi en accord avec les données de la littérature (Hall et al., 2001 ; Majchrzak et al., 2006 ; Calandreau et al., 2007). Si aucune différence dans les niveaux de peur exprimée dans chacun des contextes n'est observée, ces niveaux relativement bas -n'autorisant que peu de réduction dans un nouveau contexte- ne nous permettent pas de conclure à une incapacité des animaux à discriminer les contextes.

Au délai de 28 jours, les animaux présentent une généralisation marquée de la peur quel que soit le type de protocole avec lequel ils ont été conditionnés, se manifestant par des niveaux de *freezing* équivalents dans les deux contextes (Wiltgen & Silva, 2007). Une telle généralisation des réponses de peur apparaîtrait cohérente avec l'hypothèse d'une perte en détails du souvenir du contexte avec le passage du temps, du fait de sa dégradation ou sa transformation (Biendenkapp & Rudy, 2007 ; Winocur et al., 2010). Néanmoins, l'observation d'un différentiel au délai le plus long, chez les animaux conditionnés au contexte en arrière-plan, tout en confirmant les données d'une étude antérieure s'étant intéressée à ce délai (Balogh et al., 2002), suggère qu'à ce délai les animaux soient bien capables de discriminer le contexte de conditionnement d'un autre contexte. Or une telle discrimination présuppose la reconnaissance du contexte sur la base d'une représentation suffisamment détaillée. Ceci suggère qu'au moins dans ce groupe, une interprétation de la peur généralisée à 28 jours en termes d'altération des processus mnésiques portant sur la représentation du contexte devrait au mieux consister en une indisponibilité transitoire de la trace à ce délai. Si une telle discrimination à 56 jours n'est pas mise en évidence chez les animaux conditionnés au contexte en avant-plan, nous noterons cependant que ces animaux atteignent un plafond dans l'expression de la peur dès le délai de 28 jours. Ce niveau maximal, n'autorisant pas de mise en évidence d'un différentiel au délai le plus long (semblant dépendre chez les animaux conditionnés au contexte en arrière-plan d'une augmentation des niveaux de peur exprimés dans le contexte de conditionnement), souligne l'influence d'une incubation des réponses de peur lors des tests aux délais longs.

En effet, quel que soit le type de protocole de conditionnement, la peur conditionnée exprimée est plus importante dès le délai de 28 jours par rapport à celui de 24 heures dans les deux contextes, une telle incubation ayant été rapportée par plusieurs travaux antérieurs (Houston et al., 1999 ; Balogh et al., 2002 ; Frankland et al., 2004). Or, cette potentialisation

de l'expression des réponses de peur avec le temps indépendamment du contexte d'exposition pourrait représenter une alternative non-négligeable pour expliquer la généralisation des réponses de peur. Ainsi, chez les animaux conditionnés au contexte en avant-plan, l'atteinte de niveaux maximaux d'expression de la peur du fait d'une augmentation de son ampleur pourrait masquer la présence d'un différentiel entre les contextes. Une telle interprétation en termes d'effet plafond ne pourrait cependant pas expliquer la généralisation à 28 jours chez les animaux conditionnés au contexte en arrière-plan, dont la discrimination à 56 jours semble dépendre d'une augmentation de la peur dans le contexte de conditionnement. Néanmoins, chez ces animaux, en tenant compte des différentes composantes (associatives et non-associatives) de l'expression de la peur conditionnée (Wotjak & Kamprath, 2004 ; Riebe & Wotjak, 2011), cette absence de différentiel à 28 jours pourrait être considérée comme la résultante de la faible association s'étant initialement mise en place entre le contexte et le choc dans un tel protocole de conditionnement. L'exposition au contexte de conditionnement (et sa reconnaissance) évoquerait une association de faible intensité de ce contexte avec le choc, intensité insuffisante pour qu'un différentiel puisse être mis en évidence avec le contexte modifié. Ce faible contrôle des réponses de peur par le contexte expliquerait l'absence de discrimination au délai le plus court, si l'on exclue l'hypothèse d'un effet-plancher à ce délai. Dans ce cas de figure, l'expression d'une peur conditionnée d'amplitude élevée à 28 jours reposerait principalement sur des mécanismes non-associatifs liés à l'incubation, potentialisant les réponses de peur de manière équivalente dans les deux contextes. Selon cette hypothèse, l'observation d'un différentiel à 56 jours pourrait représenter un démasquage de la peur conditionnée au contexte avec le temps : si à 28 jours l'absence de différentiel devait être liée au faible contrôle de la réponse de peur par le contexte (du fait de la présence d'un son prédictif au moment du conditionnement), ce dernier acquerrait à 56 jours un contrôle plus élevé, du fait de la consolidation à long terme de l'association. Ceci se manifesterait par des réponses de peur différentes selon le contexte, les animaux réagissant au contexte de conditionnement à la manière d'un contexte conditionné en avant-plan, commandant une réponse de peur plus élevée que celle évoquée par un contexte modifié. Une telle hypothèse centrée sur la mise en place d'une incubation non-associative des réponses de peur, associée à l'émergence tardive de mécanismes associatifs dans les groupes conditionnés au contexte en arrière-plan, permettrait d'expliquer la généralisation à 28 jours sans recourir à une interprétation en termes de dégradation de la représentation du contexte. Or, l'analyse de

la séance de test par blocs semble apporter des données convergentes à cette interprétation, tout en tendant à révéler l'existence de traitements différentiels des contextes à délai long également chez les animaux conditionnés au contexte en avant-plan.

### *Dynamique d'expression des réponses de peur et discrimination*

Si les analyses portant sur l'ensemble de la séance de test de la peur conditionnée au contexte ne nous permet pas en tant que telle de privilégier l'une ou l'autre des hypothèses explicatives, l'observation du déroulement temporel des réponses de peur offre néanmoins quelques arguments en défaveur d'une interprétation de la généralisation en termes mnémoniques.

En effet, chez les animaux conditionnés au contexte en arrière-plan (Figure 6), d'une part, la mise en place d'un différentiel dans les niveaux de peur entre les contextes semble principalement liée à l'augmentation de l'amplitude du pic de réponse (premier bloc) dans le contexte de conditionnement entre 28 et 56 jours, ce pic de réponse apparaissant stable entre ces délais dans le contexte modifié. Ceci suggère que même si une incubation potentiellement non-associative pouvait intervenir dans les niveaux globalement élevés d'expression de la peur observés à ces délais, une autre composante, temporellement limitée au début de la séance, s'y ajouterait à 56 jours de manière spécifique lors de l'exposition au contexte de conditionnement. Cette spécificité témoignerait du caractère associatif de cette composante. D'autre part, à ce délai, si les réponses de peur semblent se réduire au cours de la séance dans les deux contextes, la dynamique temporelle de cette réduction semble différer entre les contextes : la réponse de peur se réduit significativement entre les deuxième et troisième blocs dans le contexte de conditionnement, et entre les premier et deuxième blocs dans le nouveau contexte. Ceci laisse à penser que des mécanismes de traitement différents soient mis en place en fonction du contexte d'exposition. Ces processus pourraient être qualitativement différents, renvoyant à une extinction de la peur au contexte de conditionnement (mise en place progressive d'un apprentissage inhibiteur du fait de l'absence de réexposition au SI) par opposition à une régulation de l'expression de la peur au contexte modifié, du fait qu'il soit reconnu comme différent du contexte de conditionnement (cette régulation devant alors être considérée comme d'instauration plus rapide). Une hypothèse alternative consisterait à

évoquer un traitement différent sur un plan plus quantitatif : une extinction (un apprentissage inhibiteur) se mettrait en place dans les deux cas, mais plus rapidement dans un nouveau contexte. Une dernière possibilité serait qu'un processus de réduction des réponses de peur qualitativement et quantitativement équivalent dans les deux contextes soit mis en jeu, mais que le niveau saturé de peur exprimé dans le contexte de conditionnement « ralentirait » l'opportunité d'y détecter une réduction du pourcentage de *freezing*. Que les processus mis en jeu dans l'un ou l'autre des contextes soient assimilables ou pas, ces résultats nous amènent à suggérer que des mécanismes associatifs pourraient être sous-jacents à la dissociation de la rapidité avec laquelle se réduit l'expression des réponses de peur. De fait, cette différence de dynamique apparaîtrait comme un argument supplémentaire en faveur du gain de contrôle des réponses de peur, dans ces groupes, par des mécanismes associatifs en lien avec la représentation contextuelle au délai de 56 jours par rapport au délai de 28 jours. Ainsi, la généralisation des réponses de peur à ce dernier délai semblerait plus probablement liée au faible contrôle initial des réponses par le contexte propre à ce type de protocole plutôt qu'à une discrimination du contexte à la fois indécélable et 24 heures et déficitaire à 28 jours.

Chez les animaux conditionnés au contexte en avant-plan, pour lesquels le contexte présente un contrôle élevé de l'expression des réponses de peur dès le délai le plus court, l'atteinte d'un niveau maximal d'expression est particulièrement saillante à travers la dynamique temporelle des réponses au cours de la séance (Figure 7). En effet, à délai long une exposition prolongée n'amène pas à une réduction de celles-ci au cours de la séance. Néanmoins, l'analyse par blocs démontre un différentiel entre les contextes dans la réponse immédiatement mise en place par les animaux testés à 28 jours. Les données de la littérature suggérant qu'un délai d'une minute serait suffisant au rappel d'un contexte connu (Wiltgen & Silva, 2007 ; Winocur et al., 2009), ce différentiel pourrait être le seul indicateur d'un traitement spécifique du contexte de conditionnement dans une situation où l'expression du comportement de *freezing* est saturée. Si un tel différentiel n'est pas rapporté à 24 heures ou 56 jours, ceci pourrait être lié respectivement à des effet-plancher et effet-plafond dans les niveaux de peur exprimés.

### *L'incubation des réponses de peur : un processus homogène ?*

L'analyse de la dynamique temporelle des réponses de peur soulève par ailleurs un effet lié à l'incubation apparaissant spécifique au conditionnement au contexte en avant-plan (n'étant pas observé chez les animaux des groupes PA), le maintien des réponses de peur au cours de la séance. En effet, alors qu'à 24 heures les réponses de peur des groupes UP se réduisent en fin de séance dans les deux contextes (ce qui est observé à tous les délais chez les animaux PA), l'incubation des réponses de peur amène à leur expression soutenue aux délais les plus longs. Si cette observation pourrait être un effet direct de l'atteinte d'un plafond dans les réponses de peur (l'intensité de ces réponses étant trop importante pour permettre la mise en évidence d'une réduction dans nos conditions), une explication alternative semblerait pertinente au vu du lien ayant été proposé entre le caractère temporellement diffus des réponses de peur et l'anxiété (Walker et al., 2003). Ainsi, l'apparition aux délais longs de réponses de peur soutenues sur une période de temps plus importante pourrait être comprise comme la manifestation de modifications à long terme dans l'expression de comportements anxieux. Dans ce cadre, il est notable que cette réponse soit spécifique aux animaux conditionnés à un contexte en avant-plan : si l'incubation en termes d'augmentation de l'amplitude des réponses de peur est rapportée quel que soit le protocole de conditionnement, l'augmentation de leur durée (l'ajout d'une composante « anxieuse » à ces réponses) semblerait spécifique à un protocole de non-appariement (imprédictibilité relative).

### *Conclusions*

En définitive, les résultats comportementaux que nous avons obtenus nous amènent à suggérer que la généralisation de la peur au contexte avec l'augmentation de l'ancienneté du souvenir reflèterait moins la dégradation d'une représentation précise du contexte dans lequel a eu lieu le conditionnement, ou le recours à une représentation décontextualisée (schématique), que la mise en place de modifications portant sur l'expression de la peur conditionnée évoquée par ce contexte. L'incubation des réponses de peur, bien que rapportée par plusieurs auteurs, demeure mal caractérisée : l'une des hypothèses avancées consisterait en une sensibilisation, au cours du temps, des circuits impliqués dans les réponses émotionnelles (« output gain hypothesis », Houston et al., 1999). Cette hypothèse, s'il elle

n'a, à notre connaissance, pas fait l'objet d'une validation expérimentale à ce jour, apparaît cohérente avec nos résultats immunohistochimiques, si l'on considère un réseau étendu impliqué dans la mise en place de comportements défensifs, et pas seulement des circuits classiquement décrits comme sous-tendant la réponse de peur.

### *4.2. Données immunohistochimiques*

L'analyse factorielle effectuée sur nos données est apparue un outil statistique puissant dans une optique de simplification des données collectées. En effet, elle nous permet de rendre compte de distinctions dans les dynamiques d'activation de trois ensembles fonctionnels cohérents avec les connaissances actuelles sur le substrat neurobiologique impliqué dans l'expression de la peur conditionnée. Ainsi, elle nous permet de décrire le recrutement plus ou moins marqué du circuit sous-tendant les traitements de l'information contextuelle (hippocampe dorsal), de la commande des réponses de peur (amygdale centrale et NST) et de régulation des émotions (cortex préfrontal médian, hippocampe ventral et noyau basolatéral de l'amygdale). Si ces trois ensembles semblent présenter dans nos données une augmentation de l'activité avec le délai, nous noterons que la dynamique d'augmentation de chacun de ces ensembles, notamment au délai de 28 jours ou une généralisation et incubation de la peur sont présentes, apparaît dissociable en fonction du type de protocole auquel les animaux ont été soumis lors de la première séance. En effet, nos résultats suggèrent qu'une augmentation du premier facteur (régulation des émotions) soit plus marquée chez le groupe conditionné avec un protocole apparié, celle du second facteur (expression de la peur) plus marquée chez les animaux conditionnés avec un protocole non-apparié, tandis que le groupe non-conditionné se caractériserait par une augmentation sur le troisième facteur (traitement du contexte).

De manière intéressante, un certain nombre de structures ne présente pas, en dépit de la condition d'orthogonalité des facteurs, un poids factoriel exclusivement élevé sur l'un ou l'autre des facteurs. Or, les structures en question pourraient représenter des points de jonction potentiels entre ces trois ensembles. En effet, le subiculum, en tant que « voie de sortie » de la formation hippocampique, reçoit un nombre important d'informations en provenance de l'hippocampe et projette notamment sur le cortex préfrontal médian et le noyau basolatéral de

l'amygdale. Il pourrait représenter la voie par laquelle l'information contextuelle traitée par l'hippocampe est transmise à ces structures pour un traitement émotionnel et / ou associatif. De même, le noyau basolatéral de l'amygdale et l'hippocampe ventral sont tous deux connectés à la fois avec le cortex préfrontal médian et avec les noyaux amygdaliens. Ils pourraient représenter la voie par laquelle un traitement de haut-niveau des émotions amène à la régulation de l'expression des réponses de peur.

### *4.2.1. Cortex préfrontal médian, hippocampe ventral et amygdale basolatérale*

Ainsi, le premier facteur extrait par l'analyse concerne les hauts niveaux d'activation conjointe des cortex cingulaire antérieur, prélimbique et infralimbique, ainsi que de l'hippocampe ventral (CA1 et subiculum) et du noyau basolatéral de l'amygdale. Cet ensemble, s'il a pu être mis en lien dans la littérature avec le traitement de l'information contextuelle, apparaîtrait plus particulièrement sous-tendre dans nos données des traitements émotionnels intégrant ces informations cognitives.

#### *Selon la théorie standard de la consolidation...*

La forte représentation des zones préfrontales sur ce facteur suggérerait un rôle de celui-ci dans le rappel de l'information contextuelle ancienne. De manière cohérente avec cette hypothèse, c'est au délai le plus court que l'ensemble de structures représentées par ce premier facteur présente les niveaux d'activité les plus bas selon l'analyse factorielle. Une augmentation progressive de l'activité de ce facteur est observée dans tous les groupes, atteignant à 56 jours des niveaux significativement différents des niveaux initiaux. Si une activation plus importante avec le délai des zones préfrontales, représentées par ce seul facteur, et plus particulièrement du cortex cingulaire, apparaîtrait en soi compatible avec une interprétation en termes de processus de rappel de l'information ancienne, le fait qu'elle n'apparaisse de manière significative que dans le groupe conditionné au contexte en arrière-plan à 28 jours suggérerait un rôle plus général (qu'un seul processus de rappel) dans le traitement de l'information contextuelle, si elle devait s'y référer. En effet, à un délai où une généralisation des réponses de peur est observée chez l'ensemble des animaux conditionnés,

rien ne nous permet d'affirmer qu'une information contextuelle dépendante du cortex préfrontal médian ne serait rappelée que dans l'un des groupes. De plus, l'hypothèse d'un rôle du cortex préfrontal médian dans le rappel des informations contextuelles, telle que suggérée par la théorie standard de la consolidation, impliquerait un désengagement concomitant de la formation hippocampique. Si l'analyse des matrices des résidus suggèrent qu'il puisse bien y avoir un « décrochage » entre les activités cingulaires et celles de l'hippocampe ventral sur ce facteur, les données brutes suggèrent que ce découplage soit plutôt lié au délai le plus court, seul délai où une activité de l'hippocampe ventral (tout du moins le CA1) n'est pas rapportée. En outre, la surestimation de cette corrélation entre ces structures semble relativement faible au regard de leur corrélation observée.

*Selon l'hypothèse de Rudy et ses collaborateurs...*

L'activité de ce facteur pourrait témoigner de la mise en place de processus de contrôle du rappel de l'information, plutôt que de représenter l'engramme de la représentation du contexte. Un En effet, Rudy et ses collaborateurs (2005) proposent que le cortex préfrontal intervienne pour allouer des ressources attentionnelles supplémentaires lors d'un rappel rendu plus difficile par le passage du temps. Aussi, cette interprétation pourrait rendre compte du niveau supérieur de l'activité préfrontale observée chez les animaux conditionnés au contexte en arrière-plan, si l'on devait considérer qu'au moment du conditionnement, leur traitement des informations contextuelles ait divergé de celui mis en place par les animaux conditionnés au contexte en avant-plan. En effet, un ensemble de données suggèrent que la différence de traitement au moment du conditionnement entre un contexte en avant- ou en arrière-plan implique les projections septo-hippocampiques, dont l'activité semble régulée par l'amygdale (Desmedt et al., 1998 ; Calandreau et al., 2007). Or, la lésion des neurones de projection du septum médian avant un apprentissage spatial a été démontrée comme affectant la durée (en jours voir semaines, selon le type de lésions –cholinergiques, GABAergiques ou combinées) pendant laquelle la représentation acquise peut être rappelée (Lecourtier et al., 2011). Il est donc envisageable qu'un contexte en arrière-plan représente une trace difficilement accessible à un délai plus court que la représentation d'un contexte en avant-plan. Néanmoins, cette hypothèse n'explique pas pourquoi des animaux non-choqués ne présentent pas une telle augmentation dès 28 jours : en effet, il est généralement admis que l'éveil émotionnel

influence la mémorisation (McGaugh, 2006 ; Roozendaal et al., 2006 ; Schwarze et al., 2012), ce qui suggèrerait que ces témoins disposent d'une trace mnésique du contexte au moins aussi sensible au passage du temps que les animaux conditionnés au contexte en arrière-plan.

### *Selon la théorie de la transformation...*

Nous pourrions supposer que l'activité préfrontale vienne marquer la sollicitation d'une représentation qualitativement différente de la représentation contextuelle initiale. Ce serait en effet le rappel d'une représentation plus schématique du contexte par les animaux qui expliquerait le haut degré de généralisation des réponses de peur (Winocur et al., 2010). Or, comme nous le mentionnions dans le cadre de la théorie standard, le rappel d'une information de type schématique est proposé par ce modèle comme indépendante de toute activation hippocampique, ce que ce facteur semble ne pas confirmer. De plus, une telle explication supposerait qu'à un délai de 28 jours, la trace « générale », dépendante de ce cortex, rappelée par les animaux conditionnés en arrière-plan ne le soit pas chez les animaux conditionnés en avant-plan. Or, une généralisation est observée à ce délai dans les deux groupes, suggérant que ce comportement, s'il devait bien renvoyer au rappel d'une représentation dénuée de détails, ne se rapporte pas directement à une activité préfrontale.

### *Un rôle non-mnémorique ?*

Une alternative non négligeable permettant d'expliquer l'augmentation de l'activité de cet ensemble concernerait une implication de ces structures dans la régulation des réponses mises en place avec le temps, notamment un rôle possible dans l'incubation des réponses de peur. En effet, l'augmentation de ce premier facteur est présente à un délai de 28 jours dans un groupe manifestant une incubation des réponses de peur. Or, les structures du cortex préfrontal médian, ainsi que l'hippocampe ventral et l'amygdale basolatérale, ont été démontrée comme impliquées dans la régulation de l'expression des réponses de peur. Le cortex infra-limbique semble impliqué dans l'inhibition des réponses de peur liées à l'extinction là où le cortex prélimbique a été démontré comme présentant un rôle excitateur sur ces réponses de peur (Gilmartin & McEchron, 2005 ; Vidal-Gonzalez et al., 2006 ; Corcoran & Quirk, 2007 ; Sotres-Bayon & Quirk, 2010 ; Sierra-Mercado et al., 2011), le

cortex cingulaire antérieur semble impliqué dans le traitement des associations de stimuli douloureux (Johansen et al., 2001 ; Kung et al., 2003 ; Gao et al., 2004) ainsi que l'acquisition d'une peur conditionnée (Frankland & Teixeira, 2005 ; Tang et al., 2005 ; Malin & McGaugh, 2006 ; Bissière et al., 2008 ; Furlong et al., 2010), l'hippocampe ventral a été rattaché aux émotions liée à l'inhibition comportementale (en particulier l'anxiété ; Henke, 1990 ; Gray & McNaughton, 2000 ; Kjelstrup et al., 2002) et l'amygdale basolatérale est impliquée dans l'acquisition et le rappel de l'association entre le contexte et le SI (Nader et al., 2001 ; Gale et al., 2004 ; Calandreau et al., 2005). Aussi, l'activité cohérente de cet ensemble pourrait venir marquer un traitement de haut-niveau intégrant un ensemble d'informations, ne se limitant pas au seul rappel d'une représentation du contexte, en vue de la régulation des réponses émotionnelles mises en place par les animaux. Cette explication permettrait en outre d'expliquer pourquoi une augmentation peut être constatée chez des animaux non-conditionnés. Comme nous le verrons plus loin, il est en effet possible que la fréquence des manipulations expérimentales ait pu, chez ces animaux, induire un biais lié à l'éveil émotionnel. Or, une telle hypothèse supposerait par ailleurs que les traitements émotionnels en réponse aux contextes présentent une divergence entre des animaux conditionnés au contexte en avant-plan et en arrière-plan. Si les données présentées jusqu'ici ne permettent pas encore de confirmer ce point, cette divergence sera abordée de manière récurrente dans la suite de cette thèse.

### *Un rôle fonctionnel unique ?*

De manière intéressante, nos données suggèrent que chez les animaux conditionnés au contexte en arrière-plan, l'activité de ce facteur soit encore plus importante à 56 jours, et ce particulièrement dans le contexte modifié, qui est pourtant discriminé à ce délai. Ceci suggère que l'activité de ce facteur ne corresponde pas à l'ampleur des réponses de peur selon une relation linéaire. Bien au contraire, il semblerait que l'activation de cet ensemble puisse permettre une régulation des réponses de peur suffisante pour faire émerger un différentiel en fonction du contexte. Aussi, les scores factoriels les plus élevés viendraient bien marquer le recrutement conjoint de structures présentant des rôles excitateurs (p.e. cortex prélimbique) comme inhibiteurs (p.e. cortex infralimbique) sur l'expression de la peur conditionnée. De fait, cette observation est un argument supplémentaire en faveur d'une certaine hétérogénéité

dans les processus que les structures de ce facteur pourraient sous-tendre, et suggère que le traitement en dépendant vienne bien marquer un traitement de haut-niveau des informations émotionnellement pertinentes.

### *Conclusion*

En résumé, les activations observées dans le premier facteur, impliquant le cortex préfrontal médian, l'hippocampe ventral ainsi que le noyau basolatéral de l'amygdale, suggèrent un rôle potentiel de ces structures dans des mécanismes en lien avec un traitement émotionnel. En effet, nos données ne nous permettent pas une interprétation univoque en termes d'implication de cet ensemble fonctionnel dans l'expression d'un souvenir de type épisodique ou sémantique. Bien au contraire, l'explication de nos données par l'une ou l'autre de ces hypothèses semble reposer sur des prémices y étant propres, dont nous ne pouvons évaluer la justesse sur la base de ces seuls résultats. Entre autres, une interprétation correcte des augmentations observées sur ce facteur nécessite de clarifier les différences mnésiques et / ou émotionnelles pouvant caractériser les conditionnements au contexte en arrière-plan et en avant-plan.

#### *4.2.2. Amygdale centrale et noyau du lit de la strie terminale*

Le second facteur extrait par l'analyse concerne les activations conjointes du noyau central de l'amygdale et des subdivisions du NST. Cet ensemble regroupe donc les voies de sortie de l'expression des réponses de peur, qui semblent présenter une augmentation avec le délai à l'instar du premier facteur. Néanmoins, cette augmentation semble plus précoce chez les animaux conditionnés, en particuliers dans les groupes conditionnés au contexte en avant-plan. En effet, ceux-ci se caractérisent par des scores factoriels plus importants dans les deux contextes à 28 jours.

### *Hypothèse du gain fonctionnel : spécificité au groupe conditionné en avant-plan*

Une augmentation de l'activité de cet ensemble fonctionnel est cohérente avec l'hypothèse d'une sensibilisation à long terme des circuits impliqués dans l'expression de la peur (Houston et al., 1999). L'expression de c-Fos évoquée par un stimulus stressant dans le NST a déjà été démontrée comme sensibilisée par l'administration d'un choc électrique deux semaines avant l'exposition à ce stress (Bruijnzeel et al., 1999). Cependant, un tel processus de sensibilisation devrait s'exprimer quel que soit le contexte, dès lors qu'il y ait expression d'une réponse de peur. Or, des scores augmentés dans les deux contextes ne sont observables, dans nos données, que chez des animaux conditionnés au contexte en avant-plan. Ainsi, le circuit venant sous-tendre l'incubation pourrait diverger en fonction du type de conditionnement initial : suite à un conditionnement à un son, elle serait sous-tendue principalement par un circuit impliqué dans des traitements émotionnels de « haut-niveau », tandis que le conditionnement au contexte en avant-plan amènerait à la mise en place d'une sensibilisation plus « en aval » du traitement de l'information. Dans ce cadre, nous rappellerons que les animaux conditionnés au contexte en avant-plan présentent une dynamique d'augmentation plus lente sur le facteur 1, ce qui suggère bien que des modifications comportementales similaires puissent différer dans leurs substrats et donc probablement dans le type de traitements dont elles découlent.

### *L'activité du noyau du lit de la strie terminale : émergence d'une anxiété ?*

Si une activité de l'amygdale centrale lors du rappel d'une peur conditionnée est cohérente avec les données de la littérature (p.e. Hall et al., 2001), l'observation d'une association de l'activité de ce noyau au même facteur que le NST constitue un apport supplémentaire à l'ensemble de données suggérant une implication de ce noyau dans l'expression de la peur conditionnée au contexte (Hammack et al., 2004 ; Sullivan et al., 2004 ; Resstel et al., 2008 ; Luyten et al., 2011a). De plus, nous noterons que les hauts scores des animaux conditionnés au contexte en avant-plan pourraient probablement marquer une activité conjointe du noyau central de l'amygdale et du NST dans ce groupe, une telle corrélation semblant être surestimée dans notre modèle tenant compte de l'ensemble des animaux. Aussi, une implication particulièrement marquée du NST chez ces animaux

conditionnés au contexte en avant-plan permettrait de comprendre que l'incubation des réponses de peur puisse correspondre à la mise en place de réponses de peur plus soutenues au cours de la séance. En effet, le NST a été proposé comme plus spécialisé dans le traitement des réponses anxieuses, dont le début et la fin de l'expression sont moins marqués que les réponses de peur (Walker et al., 2003). De manière intéressante, le poids factoriel non négligeable de sous-divisions de l'hippocampe ventral apparaîtrait cohérent avec un recrutement du NST lié à l'émergence, à long terme, d'une expression anxieuse plus soutenue dans le temps.

### *Divergence entre les sous-divisions du NST*

Néanmoins, les données brutes suggèrent que dans ces groupes, la division latérale de ce noyau ne soit que rarement activée lors des séances d'exposition. Ceci apparaîtrait cohérent avec la proposition d'un axe médian de l'amygdale étendue, regroupant NST médian et amygdale centrale médiane (McDonald et al., 1999 ; Alheid, 2003), qui présenterait une certaine homogénéité fonctionnelle. Le recrutement de cet axe pourrait en effet être impliqué dans la mise en place d'une incubation des réponses de peur. Le fait qu'une activité importante de ce réseau étendu ne se manifeste, à un délai de 56 jours, que lors de l'exposition au contexte modifié suggère qu'il puisse intervenir dans des processus de traitement émotionnel de la nouveauté : il pourrait sous-tendre chez ces animaux la mise en place d'une anxiété exacerbée lors de l'exposition à de nouveaux environnements. Dans ce cadre, il peut être pertinent de rappeler que la corrélation entre le noyau central de l'amygdale et le NST médian fait l'objet d'une surestimation par le modèle. Or, l'observation des données brutes suggère des niveaux d'activité plus importants du NST médian lors de l'exposition au contexte modifié chez ces animaux conditionnés au contexte en avant-plan. Il serait donc possible que ce noyau soit plus particulièrement impliqué dans la mise en place de réponses généralisées. L'observation de scores factoriels élevés à 28 jours dans le groupe conditionné en avant-plan et exposé au contexte de conditionnement pourrait être liée à l'activité de la division latérale du NST, qui n'est observable que dans ces conditions dans les groupes conditionnés avec ce type de protocole. En effet, il est possible que l'augmentation des réponses de peur dans l'un ou l'autre contexte soit liée à l'augmentation de l'activité de structures différentes. Aussi, une dissociation fonctionnelle entre les divisions du NST est

suggérée par des données d'imagerie indiquant une réduction de l'activité du NST latéral au cours du rappel d'une peur conditionnée à un SC discret, semblant se rapporter à un mécanisme de désinhibition de l'activité de l'axe médian de l'amygdale centrale (Day et al., 2008), tandis que la division ventrale du NST a été démontrée activée lors de l'exposition à un inhibiteur conditionné (Campeau et al., 1997).

Une activité de cette division latérale du NST est par ailleurs observée de manière plus fréquente chez les animaux conditionnés à un contexte en arrière-plan, en particulier au délai de 28 jours où cette activité est retrouvée dans les deux contextes. Cette observation pourrait venir appuyer l'idée d'une dissociation dans les voies de traitements de l'expression émotionnelle en fonction du type de conditionnement. Ainsi, le NST médian reçoit un ensemble d'afférences en provenance de structures impliquées dans le traitement de l'information contextuelle en lien aux émotions, telles que l'aire de transition hippocampo-amygdalienne, l'amygdale basomédiale postérieure, le subiculum ventral, les cortex infralimbique et entorhinal ; l'intégration des informations de ces structures pouvant amener au développement d'une anxiété exacerbée face à des contextes nouveaux. Le noyau latéral quant à lui semble recevoir des informations plus en lien avec le traitement de l'information aversive indépendante du contexte, en provenance du cortex insulaire somatosensoriel et du cortex prélimbique (McDonald et al., 1999 ; Alheid, 2003). Il pourrait représenter une voie par laquelle la représentation du SI et ses règles d'apparition pourrait intervenir dans la mise en place de réponses de peur généralisées.

### *Substance grise périaqueducale*

Enfin, nous noterons que les divisions ventrolatérales et dorsolatérales de la substance grise périaqueducale (PAG) présentent des poids factoriels tendant à les rapprocher des dynamiques décrites ci-dessus. Si la PAG ventrolatérale a classiquement été rapprochée de l'expression du *freezing*, c'est ici la PAG dorsolatérale qui semble mieux représentée par ce facteur. Or celle-ci a également été impliquée dans des réponses d'immobilité, ces réponses se différenciant par leur caractère défensif concernant la PAG ventrolatérale et de préparation à une réaction de fuite ou combat dans le cas de la PAG dorsolatérale (Vianna & Brandão, 2003 ; Brandão et al., 2008). Bien qu'intrigant, ce résultat pourrait être compris comme une modification de la menace perçue par les animaux, en augmentation avec le temps notamment

chez les animaux conditionnés au contexte en avant-plan. En effet, les différentes colonnes de la PAG sont tenues pour être organisées en modules correspondant à l'imminence perçue du danger (Carrive, 1993 ; Carrive et al., 1997 ; Oliveira et al., 2004).

### *Conclusion*

En résumé, ce second facteur incluant les structures impliquées dans l'expression de la peur conditionnée démontre lui aussi une dynamique de recrutement dépendante du délai de test, marquée par une augmentation avec le temps. Cette augmentation semble particulièrement marquée chez les animaux conditionnés au contexte en avant-plan, chez qui elle est associée à l'expression d'une peur généralisée. De plus, cette augmentation peut être nuancée, sur le plan des structures qu'elle implique, par quelques différences en fonction du protocole de conditionnement, suggérant que les processus de traitement de l'information amenant à la généralisation et / ou à l'incubation des réponses de peur puissent être hétérogènes, et différer entre ces groupes : chez les animaux conditionnés au contexte en avant-plan, la généralisation semble associée à une activité importante notamment du NST médian aux deux délais longs, tandis que la généralisation des animaux conditionnés au contexte en arrière-plan serait plus associée à une activité accrue du NST latéral. Cette dernière pourrait constituer un relai potentiel des informations en provenance du cortex prélimbique, et constituer une voie par laquelle une modification dans la régulation des réponses de peur dépendante des structures du premier facteur amène à une augmentation des réponses de peur à ce délai.

### *4.2.3. Hippocampe dorsal et cortex entorhinal*

Le troisième facteur extrait par l'analyse concerne les activations conjointes des subdivisions de l'hippocampe dorsal (gyrus denté, CA3 et CA1) ainsi que du cortex entorhinal. Cet ensemble regroupe donc les principales structures du lobe temporal médian ayant été impliquées dans le traitement des informations contextuelles. La mise en évidence d'un tel facteur par analyse factorielle est une réelle aubaine, dans la mesure où il nous permet de tester directement les hypothèses formulées sur le lien unissant l'implication de l'hippocampe au rappel d'une information dégradée ou schématisée. En effet, nos conditions

expérimentales nous ont permis de mettre en évidence une discrimination à délai long, cette capacité à discriminer les contextes étant tributaire de l'existence d'une trace suffisamment riche en détails. De plus, nos données immunohistochimiques suggèrent que l'implication de l'hippocampe dans le rappel de l'information contextuelle, lors d'une exposition, ne fasse pas l'objet de modifications au cours du temps chez des animaux conditionnés.

### *Découplage entre activité de l'hippocampe et discrimination des contextes*

En effet, en supposant que la généralisation des réponses de peur repose sur la sollicitation d'une seule et même trace pauvre en détails quel que soit le contexte d'exposition, les théories de la consolidation supposent une homologie dans les voies de traitement de l'information contextuelle lorsqu'une généralisation est observée. Or, l'analyse de ce facteur démontre que dans nos conditions, c'est justement aux délais où les animaux ne présentent pas de niveaux de peur différents selon le contexte que des différences dans l'activité de l'hippocampe sont retrouvées chez les animaux conditionnés : un niveau plus important lors de l'exposition au contexte modifié que dans le contexte de conditionnement est décrit à 24 heures dans le groupe PA, et à 28 jours dans le groupe UP. Ce résultat, l'un des premiers comparant directement les niveaux d'activation de l'hippocampe dans le contexte initial et un contexte inconnu, irait donc plutôt à l'encontre des modèles actuels.

### *Augmentation de l'activité chez les témoins non-conditionnés*

Cependant, il doit être nuancé par un certain nombre d'observations, en premier lieu desquelles l'observation d'un niveau d'activation relativement plus bas chez les animaux conditionnés par rapport aux témoins non-conditionnés à délai long. Ces niveaux réduits, s'ils ont déjà été décrits dans la littérature et interprétés en termes de désengagement de l'hippocampe dans le rappel de la trace mnésique du fait de sa consolidation (Bontempi et al., 1999 ; Hall et al., 2001 ; Gusev et al., 2005 ; Frankland et al., 2004 ; Maviel et al., 2004), semblent toutefois être marqués dans nos conditions expérimentales par une augmentation des scores des animaux témoins plutôt qu'une réduction de l'activité de l'hippocampe des animaux conditionnés. Ces scores factoriels plus importants chez les témoins suggèrent un recrutement conjoint de toutes les sous-divisiones de cet ensemble étant plus spécifique à ces

animaux non-choqués. En effet, l'absence d'activité dans le gyrus denté à délai court, n'est retrouvée à 28 jours que chez les animaux conditionnés réexposés au contexte de conditionnement. L'activité du gyrus denté pourrait donc venir marquer le recrutement de la boucle polysynaptique dans son ensemble. Or cette voie de traitement de l'information a été proposée dans la littérature comme impliquée dans des processus d'encodage de l'information contextuelle (Garcia et al., 1998 ; Lee & Kesner, 2004 ; Remondes & Schuman, 2004 ; Daumas et al., 2005 ; Vago et al., 2007 ; Ji & Maren, 2008 ; Albasser et al., 2010). Dans nos conditions expérimentales, il semblerait donc que l'effet observé du délai renverrait principalement à une modification dans la manière dont les animaux témoins traitent l'information contextuelle. En effet, ces animaux présentent également à délai long un niveau d'activité du cortex entorhinal plus important lors de l'exposition au contexte de conditionnement, alors que chez les animaux conditionnés une activité plus importante est observée dans le contexte modifié (suggérant une implication dans la reconnaissance et / ou le traitement de la nouveauté). Le cortex entorhinal étant le « point d'entrée » de l'information dans la boucle polysynaptique, il est envisageable que le rappel de l'information s'y manifeste également par un niveau d'activité plus bas que celui associé à l'encodage d'une information « nouvelle ». De manière intéressante, nos résultats suggèrent que les corrélations du cortex entorhinal avec le CA1 et le gyrus denté soient surestimées par le modèle. Or Albasser et ses collaborateurs (2010) ont proposé une dissociation de la connectivité entre ce cortex et ces subdivisions de l'hippocampe, en réponse à l'exposition à des situations familières ou nouvelles. Il est donc possible que les surestimations rapportées soient liées à l'hétérogénéité des circuits impliqués dans les différents processus sous-tendus par l'hippocampe.

### *Implications quant aux processus de rappel de l'information contextuelle*

S'il est admis que le rappel de l'information se manifeste par un niveau d'activité moins important dans l'hippocampe que l'encodage, l'observation dans nos données de différentiels entre les contextes à des délais où une généralisation est observée ne doit pas être trop vite interprétée. Il est en effet tentant d'avancer qu'une trace du contexte soit rappelée de manière spécifique dans le contexte de conditionnement, par opposition à un contexte perçu comme inconnu malgré une réponse comportementale équivalente. Or, il est tout aussi concevable que la discrimination d'un contexte repose sur le rappel de la représentation

initiale, également dans le contexte modifié, et se manifeste par un niveau d'activité de l'hippocampe similaire entre les deux contextes. Dans ce cas, la mise en évidence d'une différence pourrait renvoyer à une difficulté d'accès accrue, dans un contexte modifié, à la représentation du contexte sous-tendue par l'hippocampe. Ces animaux pourraient avoir recours à une seconde représentation plus générale et indépendante de l'hippocampe expliquant la mise en place de réponses de peur généralisées. Cette hypothèse, qui permettrait de rejoindre à la fois l'hypothèse de Rudy et ses collaborateurs (2005) et la théorie de la transformation (Winocur et al., 2010) se heurte cependant aux résultats obtenus chez les animaux conditionnés à un contexte en arrière-plan à 28 jours, et ceux conditionnés au contexte en avant-plan à 56 jours. En effet, ces deux groupes présentent une généralisation de la peur à des délais où l'activité de cette structure est équivalente entre les contextes.

### *Traitement de la nouveauté et influence des émotions ?*

Aussi, une hypothèse permettant d'expliquer les niveaux d'activité bas dans l'hippocampe de ces animaux lors de l'exposition à un contexte reconnu comme nouveau (qui devrait faire l'objet d'un encodage) consisterait à prendre en compte une interférence liée à l'état émotionnel des animaux conditionnés. En effet, Kogan et Richter-Levin (2008) ont montré que dans une tâche de mémoire spatiale, un stress important (mais pas modéré) amène à une absence d'activation du CA1 lors d'un apprentissage, ce qui n'est pas le cas du cortex entorhinal (présentant une activité équivalente quel que soit le niveau de stress des animaux). Ces résultats pourraient suggérer que nos animaux, présentant des niveaux de peur importants, solliciteraient davantage des structures extra-hippocampiques dans l'encodage des informations contextuelles nouvelles. De manière cohérente avec cette hypothèse, dans notre expérience, le cortex entorhinal présente un niveau d'activité globalement plus élevé dans le nouveau contexte chez les animaux conditionnés. De plus, le cortex parahippocampique a été récemment avancé comme potentiellement capable de sous-tendre des représentations configurales du contexte (Fanselow, 2009).

En définitive, si nos résultats ne nous permettent pas de nous prononcer clairement sur les processus (rappel ou encodage extra-hippocampique) amenant les animaux conditionnés exposés au contexte modifié à présenter des niveaux d'activité hippocampique faibles dans certains cas mais pas dans d'autres, ils semblent néanmoins démontrer que l'implication de la

formation hippocampique dans le rappel d'une représentation du contexte (en sa présence) est relativement maintenue au cours du temps dans nos conditions expérimentales. De plus, la représentation que cette structure sous-tendrait ainsi est suffisamment riche pour permettre une discrimination à délai long, et l'absence de lien cohérent entre la généralisation et le recrutement de cette structure suggère que le rappel d'une représentation en dépendant n'affecte que peu la mise en place de réponses de peur généralisées à délai long.

### *Conclusion*

En résumé, l'analyse du troisième facteur démontre que l'implication de l'hippocampe dorsal dans le rappel de l'information contextuelle, dans nos conditions expérimentales, semble ne pas changer au cours du temps, se manifestant par un niveau d'activation plus bas que celui lié à un encodage de l'information. Si les théories de la consolidation prédisent que la généralisation soit corollaire à un recouvrement dans les circuits évoqués par l'exposition à différents contextes, nos résultats démontrent qu'au contraire la mise en évidence d'un différentiel dans l'activité de l'hippocampe est dissociable de la discrimination effective du contexte par les animaux. Le « désengagement » relatif de l'hippocampe est en effet observé à des délais où une peur différente selon le contexte peut être mise en évidence. La généralisation des réponses de peur semblerait donc moins liée à des perturbations de l'évocation de représentations dépendantes de cette structure que des changements mis en évidence dans les deux autres ensembles décrits.

#### *4.2.4. Le groupe témoin non-conditionné : témoin de biais expérimentaux ?*

Comme nous venons de le voir dans le cas de l'hippocampe, les animaux témoins utilisés dans cette expérience présentent, à l'instar des animaux conditionnés, des niveaux d'activation cérébrale sur les trois facteurs présentant des dynamiques de modifications liées essentiellement au délai séparant la séance de conditionnement de la séance de test. Or, certains arguments nous amènent à considérer que ces témoins soient biaisés, en ce que les processus cognitifs qu'ils mettent en jeu lors de l'exposition à l'un ou l'autre des contextes semblent diverger entre les différents délais. Ainsi, si le patron d'activations observé dans

l'hippocampe suggère fortement que ces animaux opèrent à délai long un réencodage de l'information, cet « oubli » d'un contexte non-pertinent pourrait lui-même être associé à un ensemble de modifications fonctionnelles, liées à un état de vigilance accru, du fait de l'exposition à des conditions expérimentales n'ayant été rencontrées qu'anciennement. Ces autres modifications, d'ordre attentionnel / émotionnel pourraient elles-mêmes expliquer les augmentations d'activité observées dans le cortex préfrontal et les noyaux de l'amygdale étendue chez ces témoins. Or, un autre facteur pourrait être à l'origine de ces modifications : les animaux testés aux délais longs ont fait l'objet d'une manipulation moins fréquente par les expérimentateurs dans le temps précédant la séance de test au contexte. Il serait donc possible qu'outre un niveau élevé d'induction de la protéine c-Fos lié au réencodage du contexte, des processus de « déshabitude » de la réponse émotionnelle aux manipulations par les expérimentateurs aient pu entraîner chez ces animaux un niveau d'induction élevé aux délais longs.

Dans le but de déterminer dans quelle mesure le traitement de la nouveauté et l'habitude à la manipulation avant le test auraient pu parasiter nos résultats immunohistochimiques, une expérience complémentaire a été réalisée sur des animaux non conditionnés, évaluant de manière systématique les effets de la l'exposition au contexte avant le test et de la manipulation par les expérimentateurs sur les niveaux d'expression de la protéine c-Fos dans nos structures d'intérêt. Cette expérience sera présentée avant d'aborder la conclusion générale sur les principaux résultats soulevés par notre expérience principale.

---

## EXPERIENCE COMPLEMENTAIRE

### *1. Introduction*

La possibilité que des différences marquées, chez des témoins non-conditionnés, puissent témoigner de biais expérimentaux dans notre évaluation de l'activité neuronale est suggérée par un ensemble de données de la littérature, indiquant que l'expression de la protéine c-Fos est augmentée dans un ensemble de structures cérébrales suite à l'exposition à des objets ou des situations nouvelles. Plus particulièrement, une augmentation de l'activité cérébrale mise en évidence par ce marqueur a été caractérisée dans l'hippocampe lors de l'exposition à de nouveaux contextes (Jenkins et al., 2004 ; Wirtshafter, 2005 ; VanElzaker et al., 2008 ; Rinaldi et al., 2010), cette activité découplée d'une augmentation de celle de l'axe hypothalamo-hypophyso-cortico-surrénalien suggérant qu'elle soit liée à un traitement du contexte (Pace et al., 2005). De manière cohérente avec nos données, l'activité de l'hippocampe en réponse à un nouveau contexte a été démontrée comme plus intense que l'activité liée à l'exposition à un contexte connu (Papa et al., 1993). Le cortex préfrontal médian (et notamment le cortex cingulaire antérieur) semblerait quand à lui recruté de manière plus générale dès que l'animal est confronté à une situation expérimentale nouvelle, qu'elle implique un contexte inconnu (Wirtshafter, 2005 ; Rinaldi et al., 2010) ou des objets nouveaux (Zhu et al., 1995 ; Rinaldi et al., 2010). La familiarisation lors de l'exposition répétée à une série d'environnements initialement inconnus s'accompagne ainsi d'une réduction de l'expression de c-Fos dans le cortex cingulaire antérieur (Struthers et al., 2005). Cette réduction est plus tardive dans son apparition que la réduction de l'activité locomotrice dans ces environnements, ce qui suggère que cette structure soit impliquée dans des traitements cognitifs de l'information (contextuelle) nouvelle. Par ailleurs, une réduction de l'activité évaluée par l'expression de c-Fos a été démontrée dans les noyaux basolatéral et central de l'amygdale lors d'un conditionnement au contexte en avant-plan ou en arrière-plan, lorsqu'une préexposition à ce contexte précède le conditionnement (Radulovic et al., 1998). Ceci pourrait suggérer qu'une exposition au contexte le jour précédant les tests à 24 heures dans nos conditions expérimentales ait pu entraîner une sous-évaluation de l'activité dans l'amygdale suite à ce test.

Etant donné que le souvenir effectif de l'expérience initial ne peut être directement évalué chez des animaux non-conditionnés ne présentant pas de réponse de *freezing*, la légitimité d'une utilisation de ces contrôles peut être interrogée. En effet, ces animaux, s'ils devaient mettre en place des processus de traitement de l'information contextuelle et / ou émotionnelle divergents en fonction du délai, représenteraient un groupe témoin biaisant les raisonnements par soustraction propres aux expériences d'imagerie. C'est pourquoi nous avons cherché à évaluer dans quelle mesure l'expression de c-Fos, lors de l'exposition à un contexte, peut diverger selon que l'animal y ait été préexposé ou pas. Nous avons également visé à rendre compte des modifications d'activité liées aux conditions particulières du test à délai court à savoir le degré de manipulation des animaux par les expérimentateurs : si l'expression de c-Fos devait être liée au niveau de vigilance de l'animal, comme le suggère par exemple l'implication de la transmission cholinergique dans les augmentations d'activité préfrontale et hippocampique liées à la nouveauté (Wirtshafter, 2005), il est possible qu'une manipulation quotidienne plus marquée dans la semaine précédant le test à 24 heures puisse avoir induit quelque biais dans le degré de vigilance évoqué par le placement dans les boîtes de conditionnement.

Pour ce faire, nous avons comparé l'expression de c-Fos dans nos structures d'intérêt induite par une exposition de 10 minutes au contexte chez des animaux non conditionnés, selon qu'ils soient exposés au contexte la veille ou uniquement transportés dans la salle d'expérimentation, et selon qu'ils soient manipulés ou pas lors de la semaine précédant le test. Dans le but de vérifier si le délai pouvait entraîner une « déshabitude » d'animaux initialement manipulés quotidiennement, un groupe d'animaux testés 28 jours après un simple transport en salle d'expérimentation a été inclus dans cette expérience, ces animaux étant manipulé de manière similaire aux animaux non conditionnés de la première expérience (quotidiennement avant le transport, puis hebdomadairement jusqu'à 7 jours avant l'exposition).

## 2. Matériels et Méthodes

### ◦ *Sujets*

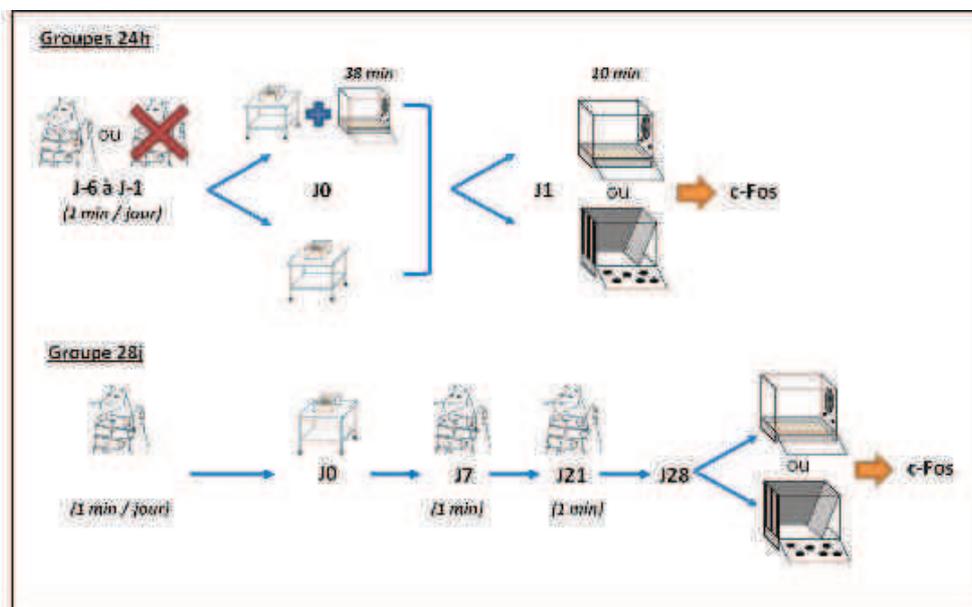
Un total de 48 rats mâles Long Evans provenant du centre d'élevage R. Janvier (France) et pesant entre 280 et 320 g à leur arrivée au laboratoire est utilisé pour cette expérience. Les conditions de stabulations sont identiques à celles de l'expérience précédente.

### ◦ *Matériels*

Les boîtes de conditionnement (deux contextes), le mode de transport ainsi que les analyses immunohistochimiques sont les mêmes que dans l'expérience précédente, c'est pourquoi ils ne seront pas détaillés plus avant ici.

### 2.1. Procédures

La figure 12 résume le protocole expérimental mis en place dans cette expérience.



**Figure 12** : Représentation schématique du protocole expérimental.

Seules les procédures particulières à cette expérience sont détaillées, les autres étant similaires à celles décrites précédemment.

### ◦ *Manipulation*

Le lendemain de la pesée et du marquage, une partie des animaux est manipulée dans les mêmes conditions que pour l'expérience précédente (groupe Manipulé), i.e. quotidiennement pendant une minute au cours des six jours précédant la séance de préexposition ou de transport. Les animaux testés au délai de 28 jours sont également manipulés aux jours 7 et 21 après cette séance. L'autre partie des animaux n'est pas manipulée (groupe Non-Manipulé) après la pesée et le marquage. Cette unique séance de confrontation aux expérimentateurs, 7 jours avant l'exposition au contexte, correspond au délai séparant la dernière manipulation du test des animaux exposés aux délais long dans l'expérience précédente.

### ◦ *Exposition*

Les animaux exposés au contexte (groupe Exposé) sont placés pendant 38 min dans les boîtes de conditionnement. Ceux n'étant pas exposés (groupe Non-Exposé) sont retirés de leur boîte d'élevage, amenés devant le caisson d'isolation (fermé) d'une boîte de conditionnement puis replacés dans leur cage d'élevage.

### ◦ *Test*

Passé un délai de 24 heures (ou 28 jours pour une partie des animaux non-exposés et manipulés), les animaux sont exposés au contexte pour une durée de 10 minutes. Bien que l'expérience précédente ait démontré une absence de différence d'activation liée au contexte chez les animaux témoins non-conditionnés et testés à délai court, l'exposition à l'un ou l'autre des contextes est contre-balançée au sein des groupes expérimentaux.

## *2.2. Analyses statistiques*

Des analyses comparables à celles effectuées dans l'expérience précédente sont réalisées. Brièvement, les résultats des comptages du nombre de neurones c-Fos positifs des animaux testés à 24 heures font l'objet de comparaisons *post-hoc* (méthode des contrastes). Celles-ci sont étendues aux animaux testés à 28 jours.

Une analyse factorielle est ensuite réalisée sur l'ensemble des animaux, pour pouvoir rendre compte des effets des conditions expérimentales sur les dynamiques d'activation

d'ensembles neuronaux. Cette analyse suit les mêmes étapes que celle employée dans la première étude. L'effet du délai et analysé par comparaison planifiée et une ANOVA à deux facteurs (Manipulation et Exposition) est effectuée sur les scores factoriels des groupes testés au délai de 24 heures.

### 3. Résultats

Les effectifs finaux de chacun des groupes expérimentaux sont détaillés dans le tableau 8. Un seul animal a été exclu du fait d'une erreur de manipulation ayant probablement entraîné un stress le jour du test et du sacrifice (groupe Manipulé Non-Exposé testé à 28 jours).

		Manipulés	Non-Manipulés
24h	Exposés	10	9
	Non-Exposés	10	9
28j	Non-Exposés	9	

**Tableau 8** : Effectifs terminaux de chacun des groupes inclus à l'analyse des données immunohistochimiques (N = 47)

### 3.1. Données brutes de l'immunomarquage de la protéine c-Fos

Le tableau 9 représente le nombre moyen de neurones comptés dans les structures à l'étude pour chacun des groupes expérimentaux.

	24h				28j
	Non-Exposés		Exposés		Non-Exposés
	Manipulés	Non-Manipulés	Manipulés	Non-Manipulés	Manipulés
CA1	3,58 ± 0,86	3,71 ± 0,98	2,38 ± 0,61	5,33 ± 1,19	12,00 ± 1,88
CA3	1,65 ± 0,25	2,27 ± 0,34	1,35 ± 0,23	3,64 ± 0,73	7,19 ± 1,68
Ento	5,33 ± 1,03	8,09 ± 2,75	9,81 ± 2,05	10,22 ± 2,79	13,89 ± 3,66
GD	2,53 ± 0,50	3,69 ± 1,04	2,66 ± 0,48	4,24 ± 0,94	15,69 ± 4,46
vCA1	2,70 ± 0,64	4,44 ± 0,50	2,30 ± 0,51	4,05 ± 1,00	5,02 ± 0,88
vCA3	0,57 ± 0,15	0,96 ± 0,24	0,62 ± 0,20	0,79 ± 0,33	2,17 ± 0,48
Subiculum	2,77 ± 0,48	7,69 ± 1,44	4,22 ± 0,89	7,49 ± 1,60	7,28 ± 1,03
BLA	6,75 ± 1,69	7,96 ± 1,13	4,98 ± 1,36	11,52 ± 2,76	13,20 ± 3,25
CeA	2,20 ± 0,58	3,83 ± 0,63	1,99 ± 0,41	9,31 ± 1,66	16,04 ± 2,74
NST lat	0,69 ± 0,15	1,15 ± 0,21	0,66 ± 0,21	1,76 ± 0,48	3,35 ± 0,38
NST med	6,28 ± 1,22	9,70 ± 1,80	4,23 ± 0,86	7,81 ± 1,42	12,04 ± 0,36
NST vent	4,85 ± 0,87	6,21 ± 1,01	2,58 ± 0,59	7,24 ± 1,01	8,61 ± 0,81
PAG dl	8,37 ± 1,10	9,33 ± 2,24	8,67 ± 1,08	9,76 ± 1,57	11,07 ± 1,88
PAG vl	13,08 ± 1,61	14,31 ± 2,55	15,63 ± 3,04	14,71 ± 2,63	16,93 ± 2,15
Cg 1	10,09 ± 2,38	39,85 ± 11,47	9,25 ± 2,13	19,07 ± 5,88	17,56 ± 3,21
PRL	3,14 ± 0,76	19,63 ± 10,16	6,77 ± 1,48	9,07 ± 1,99	10,57 ± 2,68
IL	2,74 ± 0,68	11,52 ± 4,41	4,23 ± 1,04	6,33 ± 1,51	7,33 ± 1,83

**Tableau 9** : Nombres moyens de cellules c-Fos positives ( $\pm$  erreurs-types) obtenues dans chacune des structures pour les différents groupes expérimentaux.

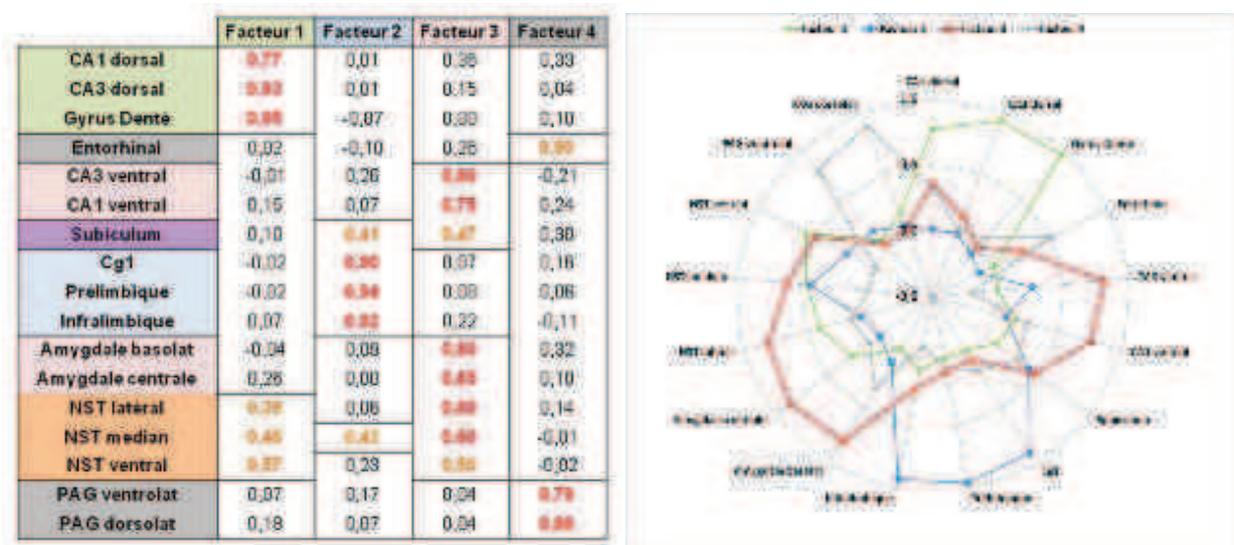
### 3.2. Modélisation par analyse factorielle

Une solution à quatre facteurs est cette fois-ci apparue comme la plus adaptée suite à l'analyse factorielle de l'ensemble des données, comme le montre le tableau 10. Un tel modèle permet de rendre compte de près des trois quart de la variance observée dans les données immunohistochimiques (74,75 %).

	Valeur Propre	% Variance	Valeurs propres cumulées	% Variance cumulée
Facteur 1	6,38	37,53	6,38	37,53
Facteur 2	2,75	16,20	9,13	53,73
Facteur 3	1,82	10,68	10,95	64,41
Facteur 4	1,76	10,33	12,71	74,74

**Tableau 10** : Valeur propre associée à chacun des facteurs retenus pour l'analyse factorielle et pourcentage supplémentaire de variance des données expliqué par l'ajout de chacun de ces facteurs

Les facteurs extraits (présentés en Figure 13) mettent en exergue quatre ensembles fonctionnels : un premier facteur lié à l'activité de l'hippocampe dorsal (gyrus denté, CA3 et CA1) associé dans une moindre mesure au NST, un second correspondant principalement au cortex préfrontal médian et secondairement au subiculum ventral ainsi qu'au noyau médian du NST, un troisième comprenant l'amygdale étendue associée à l'hippocampe ventral, et un quatrième regroupant l'activité de la PAG et dans une moindre mesure celle du cortex entorhinal . Si ce dernier facteur présente une validité théorique inférieure à ceux décrits jusqu'à présent, il semble avant tout refléter une variabilité résiduelle de ces structures ne pouvant être expliquée par leurs relations avec les autres.



**Figure 13** : Tableau et représentation graphique des poids factoriels des variables expérimentales aux facteurs issus de l'analyse factorielle. Les poids importants (> 0,6) sont indiqués en rouge, les poids intermédiaires (entre 0,4 et 0,6) sont indiqués en orange.

Nous noterons par ailleurs que si le subiculum ventral n'est pas clairement associé à l'un ou l'autre de ces facteurs, il semble le plus corrélé aux facteurs 2 (cortex préfrontal) et 3 (amygdale étendue et hippocampe ventral).

Les tableaux 11 et 12 représentent les matrices de corrélations observées et de corrélations résiduelles de ce modèle à quatre facteurs.

	CA1	CA3	GD	Ento	vCA3	vCA1	Subiculum	Cg1	PRL	IL	BLA	CoA	NST let	NST med	NST vent	PAG vl	PAG dl
CA1	1,00																
CA3	0,76	1,00															
GD	0,79	0,88	1,00														
Ento	0,23	0,19	0,17	1,00													
vCA3	0,76	0,88	0,19	0,18	1,00												
vCA1	0,28	0,12	0,05	0,12	0,55	1,00											
Subiculum	0,86	0,78	0,14	0,51	0,76	0,85	1,00										
Cg1	0,06	0,03	0,04	0,11	0,20	0,25	0,45	1,00									
PRL	0,08	0,01	-0,08	0,01	0,17	0,27	0,59	0,88	1,00								
IL	0,11	0,10	0,03	0,14	0,19	0,42	0,44	0,73	0,87	1,00							
BLA	0,78	0,07	-0,01	0,27	0,58	0,56	0,79	0,16	0,18	0,22	1,00						
CoA	0,47	0,09	0,28	0,24	0,09	0,56	0,44	0,05	0,12	0,22	0,54	1,00					
NST let	0,57	0,09	0,87	0,27	0,68	0,56	0,64	0,14	0,18	0,28	0,59	0,88	1,00				
NST med	0,55	0,43	0,56	0,12	0,49	0,41	0,34	0,42	0,28	0,51	0,52	0,55	0,53	1,00			
NST vent	0,56	0,48	0,76	0,08	0,78	0,64	0,49	0,15	0,18	0,35	0,45	0,54	0,58	0,79	1,00		
PAG vl	0,29	0,10	0,10	0,17	0,26	0,32	0,18	0,21	0,16	0,13	0,26	0,16	0,29	0,17	0,13	1,00	
PAG dl	0,75	0,17	0,19	0,51	0,25	-0,12	0,25	0,16	0,11	0,00	0,58	0,16	0,28	0,19	0,21	0,67	1,00

	CA1	CA3	GD	Ento	vCA3	vCA1	Subiculum	Cg1	PRL	IL	BLA	CoA	NST let	NST med	NST vent	PAG vl	PAG dl
CA1	0,17																
CA3	0,02	0,12															
GD	-0,02	0,00	0,00														
Ento	0,04	0,02	0,09	0,97													
vCA3	0,00	0,07	0,08	-0,18	0,85												
vCA1	0,05	0,02	0,01	0,05	0,02	0,25											
Subiculum	-0,01	0,05	0,05	0,07	-0,01	-0,07	0,51										
Cg1	0,01	0,02	0,03	0,11	0,05	0,00	0,00	0,16									
PRL	0,00	0,01	0,06	0,06	0,08	-0,02	-0,05	-0,08	0,11								
IL	0,01	0,01	0,02	0,05	0,03	0,01	0,02	0,08	0,00	0,10							
BLA	0,07	-0,08	0,00	-0,09	-0,10	-0,06	-0,02	-0,08	0,01	0,00	0,28						
CoA	0,07	0,02	0,02	0,03	0,00	0,10	0,02	0,01	0,06	0,03	0,09	0,20					
NST let	-0,06	0,01	-0,01	-0,01	-0,01	-0,07	-0,06	0,02	0,01	0,04	-0,08	0,07	0,19				
NST med	0,02	0,08	0,04	0,00	0,05	0,02	-0,16	0,01	0,06	0,04	0,02	0,08	0,05	0,25			
NST vent	0,05	-0,12	0,07	0,03	0,02	0,04	0,04	0,07	0,05	0,01	0,05	0,04	0,06	0,18	0,37		
PAG vl	0,03	0,01	0,03	-0,28	0,02	0,07	-0,16	0,07	0,04	0,05	0,04	0,03	0,02	0,05	0,05	0,33	
PAG dl	0,00	-0,04	-0,06	-0,14	-0,08	0,02	-0,08	-0,04	-0,01	0,01	0,02	-0,01	0,00	0,06	0,00	-0,06	0,18

**Tableaux 11 et 12 :** Matrices de corrélation des données brutes et matrice des résidus du modèle à quatre facteurs (différence entre les corrélations observées et les corrélations prédites par le modèle). Les résidus importants (de valeur absolue > 0,10) sont indiqués en rouge : une valeur positive indique une sous-estimation de la corrélation observée, et une valeur positive une surestimation. Les cases violettes indiquent des corrélations observées non-significatives.

Seules quatre corrélations entre les structures d'un même facteur semblent surestimées. Sur le troisième facteur, la corrélation entre la division ventrale du NST et le CA3 de l'hippocampe ventral est surestimée de 0,1 comme égale à 0,6. Sur ce même facteur, les divisions ventrale et médiane du noyau NST font l'objet d'une corrélation surestimée de 0,15 comme égale à 0,65. Enfin, sur le dernier facteur, les corrélations du cortex entorhinal avec la substance grise périaqueducule ventrolatérale (surestimation de 0,2 comme égale à 0,4) et dorsolatérale (surestimée de 0,15 comme égale à 0,45) font toutes deux l'objet d'une mésestimation.

D'autres corrélations surestimées concernent le cortex entorhinal et le CA3 dorsal ainsi que le cortex cingulaire antérieur (surestimées toutes deux de 0,1 comme égales respectivement à 0,1 et 0), le NST ventral et le CA3 dorsal (surestimée de 0,1 comme égale à 0,6) et enfin le subiculum ventral et la division ventrolatérale de la PAG (surestimée de 0,15 comme égale à 0,3).

	1 Facteur	2 Facteurs	3 Facteurs	4 Facteurs
CA1	0,59	0,60	0,72	0,83
CA3	0,86	0,86	0,88	0,88
GD	0,90	0,91	0,91	0,91
Ento	0,00	0,01	0,08	0,33
vCA1	0,02	0,03	0,59	0,65
VCA3	0,00	0,07	0,71	0,75
Subiculum	0,01	0,18	0,40	0,49
Cg 1	0,00	0,81	0,81	0,84
PRL	0,00	0,88	0,89	0,89
IL	0,00	0,84	0,89	0,90
BLA	0,00	0,01	0,64	0,74
CeA	0,07	0,07	0,79	0,80
NST lat	0,15	0,15	0,79	0,81
NST med	0,21	0,39	0,75	0,75
NST vent	0,33	0,38	0,63	0,63
PAG vl	0,01	0,03	0,03	0,67
PAG dl	0,03	0,04	0,04	0,82

**Tableau 13** : Représentation des communautés de chaque variable, correspondant à la différence entre la variance standardisée de chacune de ces variables (=1) et la proportion de variance n'étant pas expliquée par le modèle corrélatif (variance résiduelle correspondant à la diagonale de la figure précédente). Un score proche de un indique que le modèle permet de rendre compte d'une partie importante de l'activité dans cette structure.

Le tableau 13 représente les communautés obtenues pour chaque variable expérimentale. Nous noterons qu'à l'exception du cortex entorhinal (0,33), le modèle à quatre facteurs permet d'expliquer une proportion très importante de la variance observée dans chacune des variables. Ici encore, le cortex entorhinal semble faire l'objet de la représentation la moins valide par le modèle, présentant une association surestimée avec des structures

auxquelles il n'est pas directement connecté, et la variabilité de ses activités étant mal expliquée par l'activité des autres structures du modèle. Une ANOVA factorielle a donc été réalisée pour rendre compte de son profil d'activation en fonction des variables expérimentales. Celle-ci ne démontre aucun effet significatif des facteurs Manipulation et Exposition.

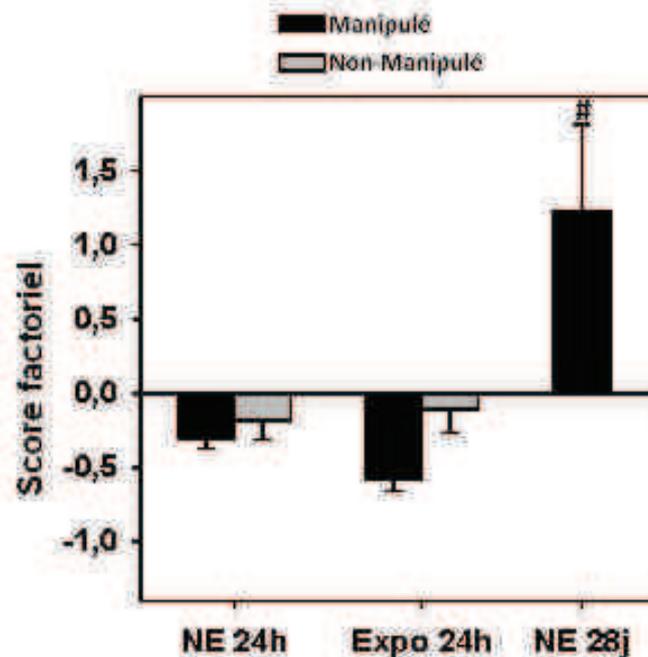
### 3.3. Analyse des scores factoriels

Les scores factoriels ont été dérivés par application aux scores standardisés (de chaque animal pour chaque variable observée) de coefficients de pondération récapitulés dans le tableau 14.

	Facteur 1	Facteur 2	Facteur 3	Facteur 4
CA1	0,24	-0,03	-0,02	0,09
CA3	0,35	0,00	-0,09	-0,06
GD	0,37	-0,01	-0,14	-0,02
Ento	-0,07	-0,08	0,06	0,25
vCA1	-0,07	-0,06	0,20	0,06
VCA3	-0,10	0,01	0,26	-0,17
Subiculum	-0,04	0,10	0,08	0,11
Cg 1	-0,02	0,32	-0,09	0,06
PRL	-0,01	0,34	-0,08	0,01
IL	0,02	0,32	-0,03	-0,10
BLA	-0,15	-0,06	0,24	0,11
CeA	-0,02	-0,09	0,24	-0,03
NST lat	0,03	-0,06	0,19	-0,02
NST med	0,11	0,10	0,09	-0,09
NST vent	0,16	0,04	0,06	-0,10
PAG vl	-0,03	0,04	-0,08	0,41
PAG dl	0,00	0,01	-0,09	0,45

**Tableau 14** : Coefficients des scores factoriels. Le calcul du score factoriel de chaque animal pour chaque facteur correspond à la somme des scores standardisés de chaque animal sur chaque variable pondérés par ces coefficients. Ces pondérations sont de signe et d'intensité assimilables (mais pas identiques) aux poids factoriels des variables sur chacun des facteurs.

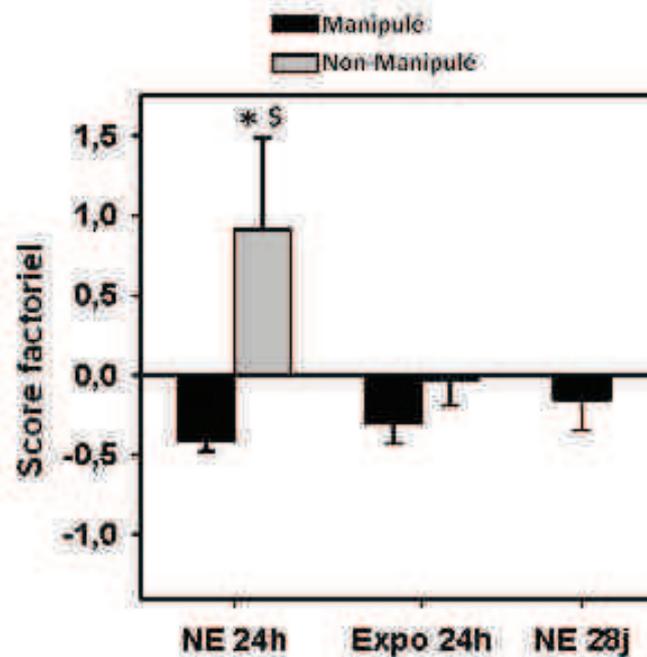
La figure 14 montre les scores factoriels obtenus par les animaux des différents groupes expérimentaux sur le premier facteur (hippocampe dorsal et NST ventral).



**Figure 14:** Score factoriel moyen (+ ou - erreurs-types) des groupes expérimentaux sur le Facteur 1. Abréviations : NE 24h = groupes non-préexposés avant un test à délai court ; Expo 24h = groupes préexposés avant un test à délai court ; NE 28j = groupe non-préexposé, initialement manipulé et testé à 28j. Statistiques : # = différent du groupe équivalent au délai de 24h ;  $p < 0,05$ .

Cette figure semble principalement indiquer une augmentation des scores factoriels liée au délai chez les animaux non pré-exposés et manipulés ( $p < 0,001$ ). Si cette figure semble de plus suggérer un niveau plus bas d'activité dans cet ensemble chez les animaux exposés lorsqu'ils ont été manipulés auparavant, cette différence n'apparaît pas significative dans les comparaisons *post-hoc*, quand bien même l'ANOVA effectuée sur les scores à délai court indique un effet du facteur Manipulation ( $F_{1,30} = 6,2$  ;  $p < 0,05$ ). Des interactions d'ordre supérieur ne sont pas rapportées ( $F_{\max} = 2,2$   $p = 0,14$ ).

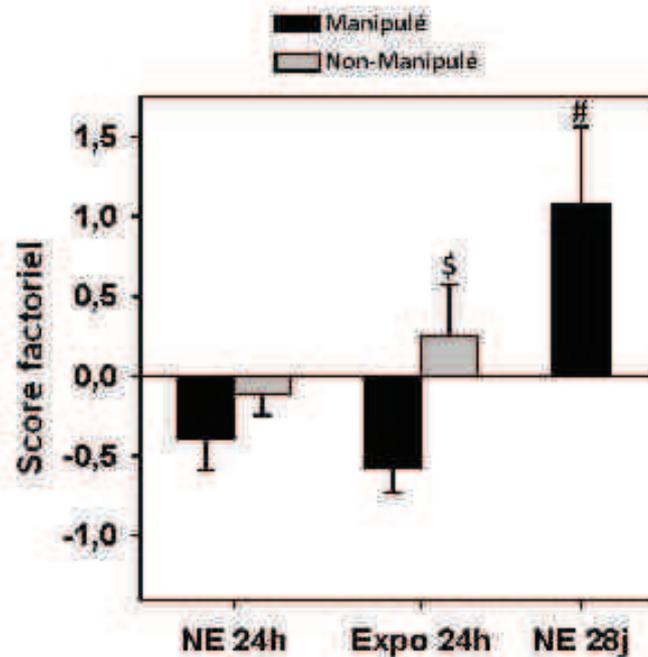
La figure 15 représente les scores factoriels obtenus par les animaux des différents groupes expérimentaux sur le second facteur (cortex préfrontal).



**Figure 15:** Score factoriel moyen (+ ou - erreurs-types) des groupes expérimentaux sur le Facteur 2. Abréviations : NE 24h = groupes non-préexposés avant un test à délai court ; Expo 24h = groupes préexposés avant un test à délai court ; NE 28j = groupe non-préexposé, initialement manipulé et testé à 28j. Statistiques : \* = différent des animaux exposés ; \$ = différent des animaux manipulés ;  $p < 0,05$ .

Cette figure n'indique pas d'augmentation avec le délai de l'activité de cette zone. Une activité plus importante est néanmoins observée à délai court chez les animaux qui ne sont ni manipulés ni exposés au contexte, que ce soit par rapport au groupe Non-Manipulé et Exposé ou au groupe Manipulé et Non-Exposé. L'ANOVA confirme un effet du facteur Manipulation ( $F_{1,30} = 5,7$  ;  $p < 0,05$ ) mais n'indique pas d'autres effets significatifs ( $F_{\max} = 2,5$  ;  $p = 0,17$ ). Les comparaisons *post-hoc* attribuent cependant cet effet de la manipulation au seul groupe Non-Exposé, en confirmant les différences observées ( $p_{\max} < 0,05$ ).

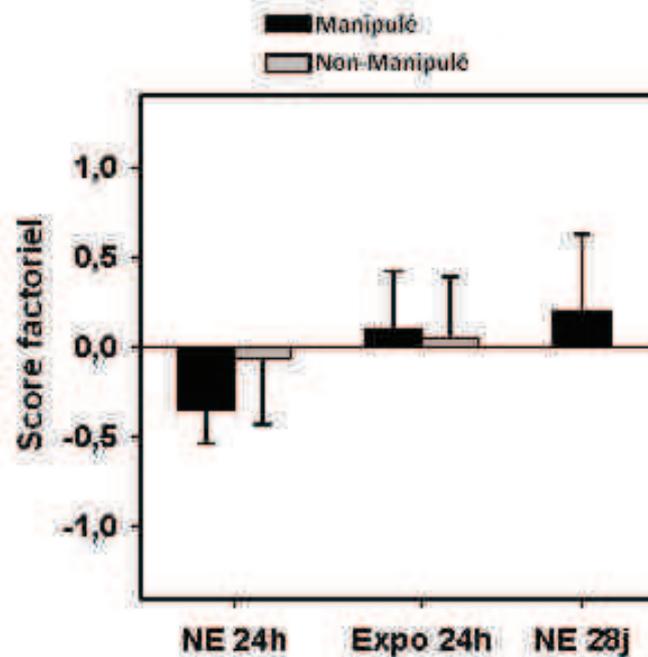
La figure 16 représente les scores factoriels obtenus par les animaux des différents groupes expérimentaux sur le troisième facteur (amygdale étendue et hippocampe ventral).



**Figure 16:** Score factoriel moyen (+ ou - erreurs-types) des groupes expérimentaux sur le Facteur 3. Abréviations : NE 24h = groupes non-préexposés avant un test à délai court ; Expo 24h = groupes préexposés avant un test à délai court ; NE 28j = groupe non-préexposé, initialement manipulé et testé à 28j. Statistiques : \$ = différent des animaux manipulés ; # = différent du groupe équivalent au délai de 24h ;  $p < 0,05$ .

Cette figure suggère une augmentation des scores factoriels avec le délai chez les animaux manipulés et non-exposés, ce qui est confirmé par l'analyse statistique ( $p < 0,001$ ). Au délai de 24 heures, un effet de la manipulation ne semble apparaître que chez les animaux des groupes Exposés. L'ANOVA confirme un effet significatif du facteur Manipulation ( $F_{1,30} = 6,65$  ;  $p < 0,05$ ) mais n'indique pas d'autres effets significatifs ( $F_{\max} = 1,6$ ). Les comparaisons *post-hoc* indiquent cependant que la seule différence significative concerne les groupes Manipulés et Non-manipulés, uniquement quand ils ont été exposés.

La figure 17 montre les scores factoriels obtenus par les animaux des différents groupes expérimentaux sur le quatrième facteur (cortex entorhinal et PAG).



**Figure 17:** Score factoriel moyen (+ ou - erreurs-types) des groupes expérimentaux sur le Facteur 4. Abréviations : NE 24h = groupes non-préexposés avant un test à délai court ; Expo 24h = groupes préexposés avant un test à délai court ; NE 28j = groupe non-préexposé, initialement manipulé et testé à 28j. Statistiques : aucun effet significatif n'est rapporté)

Aucune différence marquée n'apparaît à l'observation de cette figure, ce qui est confirmé par l'ANOVA ( $F_{\max} = 0,89$ ) comme par les comparaisons *post-hoc* ( $p_{\min} = 0,25$ ). Ceci tendrait à confirmer le caractère résiduel de ce quatrième facteur.

#### 4. *Discussion*

De manière inattendue, le nombre de neurones comptabilisés (Tableau 9) est moins important dans cette expérience que dans la précédente lors d'un test à délai court. Si ces niveaux plus bas, qui pourraient être liés à des modifications dans le protocole expérimental (changement d'anticorps pour l'immunohistochimie par exemple), rendent difficiles des comparaisons directes des données de cette expérience avec celles obtenues précédemment, nos résultats soulignent néanmoins l'importance des variables étudiées.

Ainsi, cette expérience complémentaire nous permet de mettre en évidence que l'un des principaux biais expérimentaux ayant pu intervenir dans notre expérience principale concerne un biais lié à la manipulation des animaux des groupes testés à délai court. En effet, nos résultats montrent que lorsque les animaux sont manipulés de manière intensive dans la semaine précédant le test au contexte, un abaissement du nombre de cellules c-Fos positives est retrouvé dans presque l'ensemble des structures à l'étude.

Cependant, nos résultats suggèrent aussi que cet effet ne relève pas d'un effet global de réduction de l'activation cérébrale qui pourrait résulter d'une diminution de « l'éveil émotionnel » induit par l'exposition au contexte : certains ensembles de structures apparaissent être sensibles à cette manipulation initiale de manière divergente selon l'expérience passée des animaux en terme d'exposition au contexte (Figures 15 et 16). Nos résultats montrent aussi que l'activation de certains ensembles de structures est plus marquée lorsque les animaux manipulés ne sont exposés au contexte qu'un mois plus tard, soulignant là encore la présence d'un biais dans notre expérience principale (Figures 14 et 16). Cependant, ces activations liées au délai ne concernent que partiellement les mêmes ensembles de structures que celles liées à la non-manipulation à délai court. Ceci suggère qu'un effet du délai sur l'expression de la protéine c-Fos ne pourrait être directement assimilable à une levée de l'atténuation de « l'éveil émotionnel » induite par la manipulation initiale des animaux.

En effet, les données obtenues suggèrent que l'activité du cortex préfrontal médian soit associée à « l'éveil émotionnel » induit par la conjonction d'une absence de manipulation et d'exposition au contexte, tandis que les structures amygdaliennes et hippocampiques sembleraient principalement répondre aux effets du passage du temps, sans être modulées par les conditions initiales de manipulation ou d'exposition.

#### 4.1. Cortex Préfrontal médian

Dans les structures du cortex préfrontal médian (Figure 15), en effet, on constate que l'activité cérébrale liée à une première exposition à un contexte est comparable aux deux délais chez des animaux ayant été initialement manipulés. Or, une activité marquée de cet ensemble émerge à délai court dans une situation particulière : lorsque l'absence de manipulation est associée à l'absence d'exposition antérieure à un contexte. Ceci suggère que l'activité du cortex préfrontal médian serait évoquée par un «éveil émotionnel » d'autant plus important qu'il se trouve associé à l'exposition à une situation expérimentale inconnue (et donc possiblement dangereuse pour l'animal).

En d'autres termes, le cortex préfrontal médian pourrait être impliqué dans les traitements régulant l'expression d'une réponse émotionnelle à un contexte. Un tel rôle serait cohérent avec la proposition de McNaughton et Corr (2004), qui proposent que ce cortex soit impliqué dans des situations de conflit entre un système émotionnel activateur (d'approche, exploration d'un environnement inconnu dans notre cas) et un système inhibiteur (d'évitement, comportement typiquement liée à l'anxiété, qui serait évoqué par une manipulation sans précédent). Si les données de la littérature supportent bien un rôle général des cortex prélimbique et infralimbique dans la régulation des émotions, rôles que les données de la littérature proposent comme antagonistes (Sierra-Mercado et al., 2011), nous pourrions émettre l'hypothèse que ce soit plus particulièrement au niveau du cortex cingulaire antérieur que soient intégrées les informations contextuelles à cette régulation de «l'éveil émotionnel » : cette structure présenterait une activation exacerbée lors de l'appréhension anxieuse d'un nouvel environnement. Si nos données se rapportant pour part à des animaux ayant été exposés à deux contextes différents ne nous permettent pas d'exclure que cet effet de l'exposition repose sur une représentation mnémonique d'ordre « général », nous soulignerons que le rôle de cette structure renverrait bien à une intégration de ces informations à un traitement émotionnel plutôt qu'au traitement mnésique *per se* : si le cortex cingulaire antérieur (et plus largement le cortex préfrontal médian) devait être impliqué dans l'encodage ou le rappel de ces représentations, un effet de la préexposition aurait dû apparaître quel que soit le type de manipulation initiale. De manière fort intéressante, si cette manipulation conjointe à une préexposition semble correspondre à une réduction de l'activité dans ces structures à délai court, ceci est également le cas aux délais longs. Cela suggère que

l'habituation à la manipulation et / ou la formation d'une représentation « générale » des contextes ait des effets encore à long terme sur les processus sous-tendus par ces structures.

#### *4.2. Amygdale étendue et hippocampe ventral*

Au niveau de l'amygdale étendue et de l'hippocampe ventral (Figure 16), l'effet global de la manipulation à 24 heures suggère qu'il y ait mise en place d'une régulation de l'activité de ces structures, ou bien recrutement moindre de celles-ci lors de l'exposition répétée à la manipulation par les expérimentateurs. Néanmoins, les scores factoriels indiquent que cet effet est sous-tendu par une réduction plus marquée chez les animaux ayant été préexposés. Ceci suggère qu'une réduction de l'expression de c-Fos à délai court dans ces structures puisse être liée au degré de familiarité de l'expérience. Un tel effet est cohérent avec les données de la littérature démontrant un effet de la préexposition à un contexte sur l'activité induite dans l'amygdale lors d'un conditionnement (Radulovic et al., 1998). Néanmoins, nos données semblent indiquer qu'une telle diminution nécessite un « éveil émotionnel » abaissé, du fait d'une manipulation préalable, lors de la première exposition pour être décelée. Ainsi, il est possible que l'éveil lié aux conditions expérimentales (absence de manipulation) empêche la mise en place de mécanismes inhibiteurs dans les circuits amygdaliens suite à une exposition à un contexte dépourvu de SI, mécanismes inhibiteurs (de type inhibition latente, apprentissage de l'inconséquence d'un stimulus/contexte) à l'origine d'une activité amygdalienne moins élevée, ne se mettant pas en place chez des animaux plus éveillés au moment de la première exposition à un environnement nouveau. Une hypothèse alternative serait que cet éveil, traité en tant qu'émotion aversive, fasse l'objet d'une association au fait d'être exposé, cette association (excitatrice) venant contrecarrer une habituation de l'activité des neurones de l'amygdale dépendante de la fréquence d'exposition. Dans ce cadre, la comparaison liée au délai nous offre des informations supplémentaires sur la dynamique d'une telle réduction de l'activité : en effet, une augmentation drastique de l'activité de l'amygdale est rapportée quand un délai sépare la séance de transport des animaux (manipulés) de leur première exposition au contexte. La manipulation des animaux non-exposés à délai court n'ayant pas d'effet sur l'activité de ce facteur, cette augmentation ne pourrait s'expliquer que par la durée séparant les phases de transport et d'exposition (plus importante à 28 jours, où l'amygdale est plus activée). Ainsi, ces résultats ne sont intelligibles

que si l'on considère que la première phase de l'expérience, bien que ne consistant qu'en un simple transport des animaux, ait amené à une réduction de l'activité de l'amygdale pour une période de temps courte mais comprenant le délai de 24 heures. Plus particulièrement, ce serait la similitude entre des expériences (se ressemblant au moins partiellement par les indices de transport) vécues dans un temps proche qui amènerait à une réduction de l'activité observée dans l'amygdale. Cette diminution apparaîtrait probablement liée à des mécanismes d'habituation dans ces structures, une inhibition latente du contexte, sauf à porter sur les seuls indices de transports, ne pouvant expliquer un tel effet chez des animaux n'étant pas exposés au contexte à proprement parler. Une hypothèse alternative, bien que moins probable, consisterait à avancer que chez les animaux non-exposés, la simple expérience du transport soit une situation suffisamment aversive pour induire une sensibilisation, sur le long terme, de l'activité de l'amygdale étendue, telle qu'elle a pu être mise en évidence suite à des choc électriques n'induisant pas de modification comportementale perceptible (Bruijnzeel et al., 1999).

### *4.3.Hippocampe dorsal*

Dans l'hippocampe dorsal (Figure 14) enfin, des résultats comparables à ceux observées dans l'amygdale étendue sont retrouvés. Si ces données semblent cohérentes avec notre hypothèse d'un rappel de l'information se manifestant par un niveau d'activité plus bas que l'encodage de nouveaux contextes, elles apportent néanmoins quelques nuances liées aux interactions entre la préexposition et le degré de manipulation des animaux. En effet, une réduction de l'activité de cette structure semble apparaître, à délai court, chez les animaux préexposés, bien que spécifiquement lorsque ceux-ci ont été manipulés. Si cette réduction n'apparaît pas de manière significative dans les scores factoriels, ceci pourrait être lié au fait que le gyrus denté soit la seule subdivision à ne pas montrer de réduction de l'activité dans les données brutes. Une réduction de l'activité dans CA1 et CA3 semblerait en effet cohérente avec l'idée d'une manifestation du rappel de l'information par une réduction de l'activité hippocampique. Néanmoins, cette baisse semble plus liée à la manipulation des animaux qu'à l'exposition au contexte en soi, l'exposition étant la condition à la mise en évidence d'un effet de la manipulation, et non l'inverse. Aussi, il semblerait que lors d'une seconde exposition, l'activité hippocampique diffère entre des animaux manipulés et non-manipulés. Ce

différentiel pourrait être lié à une utilisation différente de la représentation contextuelle sous-tendue par l'hippocampe en fonction du niveau « d'éveil émotionnel » des animaux : les animaux préalablement manipulés rappelleraient l'information contextuelle, mais ne l'utiliseraient que de manière moins prononcée que des animaux non manipulés, d'où mise en évidence d'un différentiel d'activité. Cependant, les niveaux d'activité de ces derniers animaux semble plus proche de ceux exprimés par les animaux n'ayant pas été exposés, ce qui suggère que l'activation plus importante chez les animaux non-manipulés puisse être liée à des processus d'encodage de l'information contextuelle. Il a en effet été proposé que le stress puisse affecter négativement la mise en place de processus d'encodage au sein de l'hippocampe lors d'un apprentissage spatial (Kogan & Richter-Levin, 2008), au bénéfice de structures para-hippocampiques. Il serait donc probable que les animaux non-manipulés, du fait d'un « éveil émotionnel » expérimental aversif, aient mis en place un encodage moins poussé du contexte lors d'une première confrontation à celui-ci.

Enfin, une forte augmentation liée au délai est retrouvée chez les animaux n'ayant pas été exposés. A l'instar des résultats obtenus dans l'amygdale étendue, ces données ne pourraient être expliquées par une différence de manipulation des animaux (celle-ci n'ayant pas d'effet à délai court chez ces animaux non-exposés). De fait, il semblerait qu'ici aussi ce soit la proximité temporelle entre des expériences partageant certains points communs qui amène à une réduction des niveaux d'expression à délai court. S'il est envisageable que l'activité hippocampique puisse faire l'objet d'une régulation par le haut, à délai long, du fait d'une activation amygdalienne plus importante (l'amygdale basolatérale régulant l'activité de l'hippocampe), il est plus probable que cette réduction à délai court témoigne du rappel des recouvrements partiels entre les expériences de transport et d'exposition. En effet, l'augmentation entre les délais semble associée à une activation accrue du gyrus denté (ne présentant pas de différence d'activité à délai court dans cette expérience), qui pourrait venir marquer, ici aussi, une sollicitation plus marquée de la boucle polysynaptique dans les processus d'encodage d'une situation « oubliée ».

#### *4.4. Apports à l'expérience principale*

Mises en lien avec les données de notre expérience initiale, les données obtenues dans le cortex préfrontal médian suggèrent qu'une levée de l'effet réducteur de la manipulation et / ou d'une première exposition chez les animaux non-conditionnés, s'il devait être présent, n'apparaîtrait qu'au délai de 56 jours (délai n'ayant pas été évalué dans cette expérience complémentaire). A ce délai, une augmentation de l'activité (par rapport à 24 heures) a en effet été rapportée sur le facteur comprenant ces structures préfrontales dans l'ensemble des groupes. Ainsi, il est probable que ces animaux témoins réagissent à la manière des groupes ici non-exposés et non-manipulés, n'ayant pas accès à la représentation d'une séance d'exposition en mémoire pour réguler un état « d'éveil émotionnel » accru. Si cette conclusion pourrait remettre en cause l'augmentation de l'activité de cet ensemble chez les animaux conditionnés au contexte en avant-plan (qui présentent une augmentation significative uniquement à ce même délai), une récusation de ces résultats, sur la base de cette comparaison, supposerait néanmoins que ces mêmes animaux conditionnés aient oublié le contexte initial, ce que les données abordées jusqu'ici ne permettent pas d'avancer de manière claire. Aussi, si ces derniers animaux devaient présenter un souvenir préservé de l'expérience initiale, l'augmentation démontrée dans ce groupe pourrait être révélatrice de processus de régulation de la réponse de peur au contexte exacerbée, mis en jeu de manière plus importante du fait de son incubation. De manière cohérente avec cette hypothèse d'une implication du cortex préfrontal dans la régulation des réponses émotionnelles intégrant des informations mnésiques chez ces animaux, nous rappellerons que l'activité préfrontale est associée dans la littérature à des processus mnémoniques ne se limitant pas aux contextes. Si l'interprétation de l'augmentation de l'activité préfrontale à délai long de ce groupe reste toutefois sujette à caution, le fait que des biais expérimentaux potentiels aient pu affecter les résultats obtenus à 28 jours dans le groupe conditionné à un contexte en arrière-plan semble, lui, peu probable. L'activation plus marquée de ces structures à ce délai chez ces animaux, ne pouvant être expliqué par un seul effet de détection de la nouveauté, de rappel de l'information ou d'éveil émotionnel, semblerait bien liée au traitement émotionnel de la peur évoquée par le contexte. En effet, à ce délai, ce groupe est le seul dans toutes nos conditions expérimentales à présenter une augmentation de l'activité du facteur comprenant le cortex préfrontal, et les résultats de cette manipulation complémentaire semblent bien appuyer un rôle ces structures dans la mise

en place et la régulation de processus associés aux émotions aversives. De fait, le cortex préfrontal médian apparaîtrait particulièrement adapté tant comme *locus* potentiel de la mise en place des mécanismes sous-tendant l'incubation dans ce groupe d'animaux, que comme impliqué dans la régulation de l'expression des émotions aversives évoquées par des contextes.

Concernant les structures de l'amygdale étendue, les résultats obtenus dans notre expérience principale sont cohérents avec l'idée d'un changement global de l'activité de ces noyaux en fonction de la cohérence des indices d'exposition ainsi que de la proximité temporelle des expériences d'exposition : les animaux non-conditionnés, ayant été exposés et confrontés à la même situation, ne présentent en effet d'augmentation de l'activité de l'amygdale qu'au délai de 56 jours (quand la réduction ici induite par le transport des animaux semble ne plus induire de réduction dès 28 jours). Or, des niveaux d'activité élevés sont retrouvés à 28 jours chez les animaux conditionnés, ce qui suggère qu'un mécanisme de sensibilisation, voire une « déshabitude » plus précoce de l'activité des neurones de l'amygdale étendue, soit spécifique à ces conditions expérimentales. De fait, l'interprétation des données obtenues chez les animaux conditionnés en avant-plan semble légitime : à 28 jours où une augmentation de l'activité de ce circuit est observée dans ces groupes, les animaux témoins non-conditionnés (mais manipulés et exposés) de l'expérience précédente y présentent encore une activité réduite. Une interprétation en termes de sensibilisation à long terme de l'activité de ces structures suite à un conditionnement au contexte en avant-plan ne saurait donc être réfutée sur la base de nos données.

Les résultats obtenus ici sur le facteur correspondant à l'activité hippocampique sont dans l'ensemble assez cohérents avec ceux observés dans la première expérience. Le conditionnement, qui représente une expérience pertinente pour l'animal, induirait une consolidation (si ce n'est un encodage) plus marquée de la représentation contextuelle, celle-ci ne pouvant être mise en évidence par des réponses comportementales que chez des animaux ayant mis en place un tel apprentissage. A délai court, une activité réduite de l'hippocampe est observée dans tous les groupes ayant préalablement été exposés et manipulés par les expérimentateurs, et ce dans nos deux expériences. Il semblerait donc bien que le rappel de l'information se manifeste par une réduction de l'activité de c-Fos au sein de cette structure,

cette réduction apparaissant de manière plus stable dans le temps chez les animaux conditionnés. De manière intéressante, cette expérience complémentaire rapporte des niveaux accrus d'activité chez des animaux les moins familiarisés aux conditions expérimentales, présentant probablement des niveaux « d'éveil émotionnel » plus importants lors des tests. Or, un différentiel de l'activité neuronale dans cette structure, lié au contexte d'exposition, a été observé chez nos animaux conditionnés dans l'expérience précédente : l'exposition à un contexte modifié semble induire un niveau d'activité accru par rapport au contexte initial, et ce uniquement à des délais où une généralisation est observée (groupe conditionné en avant-plan à 28 jours, par exemple). Cette augmentation pourrait donc témoigner de la sensibilité de l'activité hippocampique à un état émotionnel particulier caractérisé par une incubation des réponses de peur. Si l'activité de l'hippocampe pouvait être modulée par des mécanismes émotionnels, nous noterons toutefois que le niveau d'expression de la protéine c-Fos reste dans ces conditions inférieur à celui des témoins non-conditionnés testés à délai long. Il semblerait donc qu'une telle interférence ne soit pas suffisante pour empêcher la mise en évidence d'un différentiel dans le recrutement de l'activité hippocampique entre une implication dans un processus de rappel ou d'encodage de l'information contextuelle.

### *4.5. Conclusions*

En définitive, cette expérience complémentaire vient apporter un certain nombre de précisions quant à notre expérience initiale. Elle suggère un ensemble de modifications liées à l'interaction entre l'état émotionnel des animaux (et l'état de vigilance l'accompagnant) et le traitement de contextes nouveaux. La différence en termes de manipulation, superposée au facteur Délai, ne semble pas avoir représenté un biais expérimental suffisant pour remettre en cause l'ensemble des données initialement obtenues (n'induisant d'effets que dans ses interactions avec la préexposition) chez les animaux conditionnés (qui présentent par ailleurs des dynamiques d'augmentations leur étant propres). Néanmoins, le fait d'avoir tenté d'évaluer l'interférence d'un tel biais nous a offert un ensemble de données nous permettant d'affiner nos conclusions quant aux rôles tenus par les uns et les autres des ensembles de structures dégagés par l'analyse.

En effet, sur la base des analyses réalisées, cette seconde expérience suggère que le cortex préfrontal médian puisse être impliqué plus particulièrement dans la régulation des réponses émotionnelles lors de l'appréhension d'un nouveau contexte. L'augmentation de l'activité de cette structure avec le délai chez les animaux conditionnés (notamment en arrière-plan) pourrait bien représenter un marqueur de l'incubation à ces délais. Si les structures de l'amygdale étendue semblent faire l'objet d'une réduction de l'activité sur une période de temps courte après la première exposition à un contexte, ces niveaux moins élevés chez des animaux témoins semblent être d'autant plus marqués que cette première séance d'exposition n'est pas associée à l'expression d'émotions aversives. De fait, si des niveaux d'activité bas sont retrouvés à délai court chez les animaux conditionnés, une levée plus rapide de cette « inhibition » semble bien être un indicateur de modifications plastiques leur étant propres. Enfin, dans l'hippocampe, les données obtenues sont cohérentes avec une augmentation de l'activité liée au délai chez des animaux non-conditionnés, pouvant potentiellement être attribuable à une absence de rappel de l'information à ces délais. En effet, dès un délai de 24 heures, des animaux préexposés à l'ensemble des éléments de la situation semblent présenter le niveau d'activité le plus bas, pour peu qu'ils aient préalablement été manipulés par les expérimentateurs. Cependant, nous ne pouvons totalement exclure qu'une activité plus importante dans l'hippocampe dorsal puisse être liée à l'état émotionnel des animaux.

## CHAPITRE 1 : CONCLUSIONS

En définitive, ces expériences à grande échelle d'imagerie cérébrale par utilisation de la protéine c-Fos comme marqueur de l'activité neuronale nous ont permis de mettre en évidence la forte contribution des mécanismes émotionnels et / ou associatifs aux modifications à long terme dans le circuit impliqué dans l'expression de la réponse de peur conditionnée au contexte. En effet, ce circuit ne saurait être interprété du seul point de vue de la remémoration d'un souvenir de type épisodique.

### *Généralisation et incubation*

Notre protocole expérimental nous permet d'observer une généralisation des réponses conditionnées, ainsi qu'une incubation manifeste des réponses de peur. Or, l'observation des réponses de peur à un délai plus long que celui classiquement employé dans la littérature portant sur l'amnésie rétrograde liée à la résection de l'hippocampe (mais p.e. Sutherland et al., 2008) nous permet de mettre en évidence une discrimination « retrouvée » en réponse au contexte initial ou à un contexte inconnu, notamment chez des animaux conditionnés à un contexte en arrière-plan. Ceci suggère fortement que l'un des tenants majeurs de la généralisation consiste en l'incubation des réponses de peur. Celle-ci semble renvoyer, ou être associée à des mécanismes différents selon le protocole de conditionnement, ce qui semble appuyé par des modifications divergentes entre ces protocoles dans les modifications à long terme portant sur les structures potentiellement impliquées dans l'expression des réponses de peur. Ces modifications semblent principalement liées à l'activité du cortex préfrontal médian chez les animaux conditionnés à un son, et surtout liées aux structures impliquées dans la commande des réponses de peur et d'anxiété chez les animaux conditionnés au contexte en avant-plan.

### *Implication de l'hippocampe et théories de la consolidation*

Si nous observons une activité de l'hippocampe stable au cours des délais chez les animaux conditionnés, par opposition aux prédictions du modèle standard de la consolidation systémique, nous pourrions toutefois expliquer pourquoi des animaux testés à délai long sont capables de mettre en place une réponse de peur plus spécifique par le principal modèle s'y opposant. La théorie de la transformation propose en effet qu'une représentation riche en

détails (relevant d'un fonctionnement de type épisodique fortement contextualisé) demeure dépendante de l'hippocampe quel que soit le délai. Néanmoins, nos résultats s'opposent à cette seconde théorie sur un autre point : si celle-ci propose que l'activité préfrontale à délai long soit liée au rappel d'une autre représentation, schématisée, elle ne permet pas d'expliquer que dans nos conditions il y ait superposition, à délai long, d'une implication de l'hippocampe avec une augmentation de l'activité préfrontale. En effet, la seule manière de concilier nos données avec cette théorie serait de considérer qu'il y ait, dans nos conditions, sollicitation conjointe de ces deux traces. Or, cette solution apparaît peu probable au vu de certains de nos résultats, ne permettant pas d'affirmer une implication de cet ensemble cortical dans des mécanismes uniquement mnémoniques, ainsi que des interprétations alternatives offertes par la littérature de l'implication de cette zone dans les mécanismes émotionnels de haut niveau (régulation, prédictibilité d'un SI, etc...).

### *Rôles possibles du cortex préfrontal médian*

A cette interprétation, nous préférons celle d'un rôle joué par ces structures préfrontales dans l'incubation des réponses de peur et la généralisation de ces dernières, au moins pour une partie de nos groupes expérimentaux. En effet, un certain nombre de nos données suggèrent leur implication dans des processus de régulation des émotions, notamment lors de l'exposition à un nouveau contexte, et ce dès les délais les plus courts. Or, ces mêmes délais n'ont pas été proposés comme correspondant au rappel d'une représentation schématique du contexte. Les activations les plus importantes de cet ensemble sont par ailleurs trouvées au délai le plus long, dans un groupe présentant une réponse différentielle en fonction du contexte. Ceci suggère que même si le cortex préfrontal médian pouvait sous-tendre une représentation mnésique, celle-ci ne semblerait pas appauvrie en détails. Au mieux, si l'on considère que des représentations de type schématique et épisodique puissent être évoquées conjointement, les structures du lobe préfrontal médian sous-tendraient la représentation schématique induisant des haut niveaux de peur exprimés dans les deux contextes. Or, si l'activation cérébrale du cortex préfrontal devait représenter le rappel d'une telle représentation générale quel que soit le contexte d'exposition, celle-ci ne saurait rendre compte de l'ensemble des traitements contextuels effectués : certaines de nos données vont en effet à l'encontre d'un traitement de l'information contextuelle parfaitement homogène entre les contextes à ces mêmes délais où une peur élevée est constatée. Alternativement, le cortex

préfrontal médian semblerait ici plutôt impliqué dans toute situation impliquant une évaluation du risque indiqué par des indices contextuels. Aussi, son implication dans les traitements émotionnels, et potentiellement son rôle dans l'incubation des réponses de peur, pourrait renvoyer à des processus hétérogènes de traitements émotionnels, ne pouvant pas être réduits au seul rappel d'une représentation en mémoire.

### *Substrats potentiels de l'incubation*

En effet, l'incubation des réponses de peur présente une hétérogénéité dans les substrats qui semblent la sous-tendre, en fonction du type de conditionnement employé. Si l'activité préfrontale semble accompagner la mise en place de l'incubation et / ou de sa régulation chez les animaux conditionnés à un contexte en arrière-plan, un autre substrat est suggéré par nos données chez les animaux conditionnés au contexte en avant-plan. Ceux-ci ne présentent pas d'augmentation de l'activité préfrontale à 28 jours dans son ensemble, mais des réponses de peur plus élevées. En effet, chez eux, ce délai semble associé à une augmentation des niveaux d'activation dans les structures cérébrales ayant été décrites comme impliquées dans la commande des réponses de peur au contexte et d'anxiété (amygdale étendue). Cependant, à 56 jours, une telle augmentation des niveaux d'activité de ces dernières structures semble n'apparaître que dans le contexte modifié, le cortex préfrontal médian présentant un degré d'activation supérieur quel que soit le contexte. Ceci suggère que chez ces animaux, le substrat impliqué dans la mise en œuvre de réponses de peur intenses puisse différer en fonction du contexte dans lequel cette peur est exprimée.

### *Hypothèses en suspens*

Chez ces mêmes animaux conditionnés à un contexte en avant-plan, nous n'avons cependant pas pu mettre en évidence de réponse de peur spécifique au-delà du délai de 24 heures, ce qui nous empêche de nous prononcer clairement sur l'existence d'une représentation contextuelle détaillée (dont l'existence ne nous est jusque là que suggérée par les résultats obtenus dans l'hippocampe). Or, notre hypothèse principale, posant des mécanismes d'incubation différenciés de la composante mnémonique de type épisodique comme principaux acteurs de la mise en place d'une généralisation, nous amène à considérer que dans certaines conditions nous permettant de réduire l'influence de cette incubation, nous devrions être capables de mettre en évidence une réponse de peur n'étant pas généralisée.

Cette prédiction nous est apparue puissante, non seulement sur la base des activations hippocampiques révélées, mais aussi de quelques indicateurs directement issus des analyses comportementales : en effet, les animaux conditionnés au contexte en avant-plan, présentant une généralisation des réponses de peur à 28 jours sur l'ensemble de la séance, semblent présenter un différentiel dans la manière dont ils traitent initialement le contexte lors d'une exposition. De plus, les animaux conditionnés au contexte en arrière-plan, s'ils présentent des niveaux de peur diminuant au cours de la séance, présentent un patron de diminution de ces réponses plus rapide dans un nouveau contexte, ce qui suggère qu'un traitement différentiel du contexte puisse être évalué par les dynamiques d'extinction de la peur à l'un ou l'autre des contextes, au cours d'une même séance mais aussi entre les séances.

C'est pourquoi, dans la seconde partie de ce travail de thèse, nous avons cherché à caractériser plus particulièrement cette incubation sur un plan comportemental, en tentant de rendre compte de ses mécanismes d'instauration, le caractère associatif de son expression ainsi que la manière dont elle pourrait éclipser la mise en évidence d'une peur spécifique au contexte. Pour ce faire, nous avons choisi d'utiliser le découpage temporel de la séance de test tel que présenté dans ce premier chapitre, pour analyser l'expression de la peur conditionnée au contexte.

---

## **CHAPITRE 2 : Caractérisation comportementale de l'incubation**

### **EXPERIENCE 1**

#### *1. Introduction*

Si dans notre première expérience une incubation de la peur a été retrouvée quel que soit le type de conditionnement employé, un ensemble d'observations dans nos données suggèrent que son expression puisse différer en fonction du protocole expérimental utilisé pour conditionner les animaux. Nous avons vu qu'une distinction potentielle dans les circuits pouvant probablement sous-tendre cette incubation pourrait porter sur une augmentation de l'activité de l'amygdale étendue, notamment du noyau du lit de la strie terminale, qui semble accompagner des peurs d'amplitude plus importante dans les deux contextes plus particulièrement chez les animaux conditionnés à un contexte en avant-plan. Or, comme nous le mentionnions dans l'introduction, ce noyau a été proposé comme plus particulièrement impliqué dans l'expression de réponses anxieuses (Gewirtz et al., 1998 ; Walker et al., 2003 ; Duvarci et al., 2009). En effet, il semble sous-tendre la mise en place de réponses de peur plus maintenues au cours du temps (Lee & Davis 1997, Walker & Davis 1997). Or, ces réponses liées à l'anxiété, surajoutées à l'expression d'une peur au contexte, pourraient être à l'origine de notre incapacité à mettre en évidence une différence d'expression de la peur liée au contexte, différence pourtant suggérée par la réaction de peur immédiate des animaux conditionnés au contexte en avant-plan et testés à 28 jours. De manière intéressante, les données comportementales obtenues chez ces animaux suggèrent que leurs réponses de peur soient elles-mêmes plus maintenues tout le long des séances de test, aux délais où une incubation de ces réponses est mise en évidence. Ceci pourrait appuyer l'hypothèse d'une généralisation liée à une expression anxieuse plus tardive au cours de la séance, et plus ample avec le temps. Si un effet plafond dans ces données ne nous a pas permis de conclure définitivement sur ce point, une manipulation expérimentale amenant à une réduction des niveaux de peur devrait permettre de mettre en évidence une modification des réponses de peur portant plus particulièrement sur la fin de la séance chez ces animaux.

Par ailleurs, si l'incubation, et par extension la généralisation, devaient se ramener au moins pour partie à des processus plastiques impliquant le traitement de l'anxiété, ce que nous avons posé comme *a priori*, sa mise en place dans notre protocole expérimental devrait obéir aux mêmes lois que celles décrites pour la sensibilisation des réponses anxieuses liées à une expérience aversive préalable. En effet, un ensemble de données de la littérature suggère que la mise en place de modifications à long terme du comportement consécutives en particulier à une administration de chocs électriques, soit tributaire de la mise en place d'un conditionnement. Ainsi, il a été montré que l'administration aux animaux de chocs immédiats qui n'induit pas de conditionnement, n'amène pas à des modifications dans l'expression de l'anxiété, évaluée par différents tests (Radulovic et al., 1998 ; Daviu et al., 2010 ; Pamplona et al., 2011 ; Sauerhöfer et al., 2012). Nous avons alors cherché à confirmer que l'incubation retrouvée à travers l'observation du comportement de *freezing* dans notre première expérience soit bien comparable, au niveau de ses règles de mise en place, à ces modifications décrites dans la littérature. Ceci est en effet une condition nécessaire à tout rapprochement de nos données avec ces connaissances.

D'autre part, les contraintes expérimentales liées à l'utilisation d'un marqueur protéique ne nous ont pas permis, dans notre expérience initiale, d'évaluer la peur au son. Or, l'hypothèse selon laquelle l'incubation serait la manifestation d'une sensibilisation, au cours du temps, de l'ensemble des circuits impliqués dans les réponses émotionnelles (« output gain hypothesis », Houston et al., 1999), prédit qu'elle devrait également se manifester par une augmentation, au cours du temps, de cette peur au son. Cependant, si l'expression d'une incubation devait représenter principalement une potentialisation des réponses anxieuses, la peur au contexte ayant elle-même été rapprochée de l'expression de l'anxiété (Luyten et al 2011b), il est probable qu'elle n'affecte que peu la réponse à un son.

Pour pouvoir tester ces hypothèses, nous avons utilisé un protocole consistant en une exposition répétée des animaux à l'un ou l'autre des contextes. Une réduction des réponses de peur consécutive à cette exposition répétée devrait nous permettre de mettre en évidence une différence de traitement de l'information contextuelle, potentiellement décelable à 28 jours si les animaux devaient bien disposer d'une représentation mnémonique détaillée de ce contexte. De plus, un tel protocole semblerait à même d'interroger la manière dont des réponses de peur plus maintenues au cours du temps, notamment suite au conditionnement à un contexte en

avant-plan, pourraient être à l'origine de l'observation d'une généralisation des réponses de peur. Pour pouvoir interroger le caractère associatif de la mise en place de l'incubation, nous avons comparé nos groupes conditionnés à des animaux choqués immédiatement après leur placement dans les boîtes de conditionnement. Ces animaux représentant un contrôle du caractère aversif de l'expérience initiale, ils devraient nous permettre de mettre en exergue la nécessité d'une association au contexte dans la mise en place d'une incubation. Suite aux expositions à l'un ou l'autre des contextes, nous avons évalué la peur au son, pour déterminer si une incubation devait aussi la concerner,

Nous avons donc conditionné des animaux en utilisant les mêmes protocoles que précédemment (d'appariement et de non-appariement entre les sons et les chocs), groupes que nous avons comparés à un groupe contrôle du caractère aversif de l'expérience initiale (protocole de chocs immédiats). Ces groupes ont été exposés deux fois sur deux jours consécutifs soit au contexte de conditionnement, soit au contexte modifié, et ce à délai court (24 heures) ou à délai long (28 jours). La peur au son a été évaluée le jour suivant ces expositions dans un contexte inconnu des animaux.

## 2. *Matériels et Méthodes*

### ◦ *Sujets*

Un total de 102 rats mâles Long Evans ( $296 \pm 2$  g) provenant du centre d'élevage R. Janvier (France) est utilisé pour cette étude. Les animaux sont hébergés dans les mêmes conditions que celles des expériences précédentes, exception faite de la pièce dans laquelle ils sont hébergés, l'animalerie étant la pièce adjacente à la salle d'expérimentation.

### ◦ *Matériels*

Les boîtes de conditionnement utilisées pour les tests de la peur au contexte (et les deux contextes correspondant) ainsi que les modes de transport sont les mêmes que dans les expériences précédentes, c'est pourquoi ils ne seront pas détaillés.

Pour tester la peur au son, un troisième contexte est utilisé. Celui-ci consiste en une boîte en PVC (épaisseur 5 mm) dont les dimensions sont définies de manière à correspondre aux dimensions internes des boîtes de conditionnement, permettant de les glisser dans celles-ci. Une plaque de la même matière est placée devant la paroi opposée à celle du haut-parleur, de manière à former un angle de  $120^\circ$  avec la paroi opposée à la façade. Cette plaque est peinte de stries blanches verticales, tandis que le plancher de ces contextes est uniformément blanc. Ces boîtes sont ouvertes sur deux cotés (façade et plafond pour permettre le dépôt des animaux ainsi que l'enregistrement vidéo).

### *2.1.Procédures*

La figure 1 résume le protocole expérimental mis en place dans cette expérience. La procédure de manipulation des animaux avant le conditionnement est identique à celle employée pour la première expérience (manipulation quotidienne 1 min pendant six jours consécutifs, ainsi qu'à 7 et 21 jours pour les animaux testés à 28 jours).

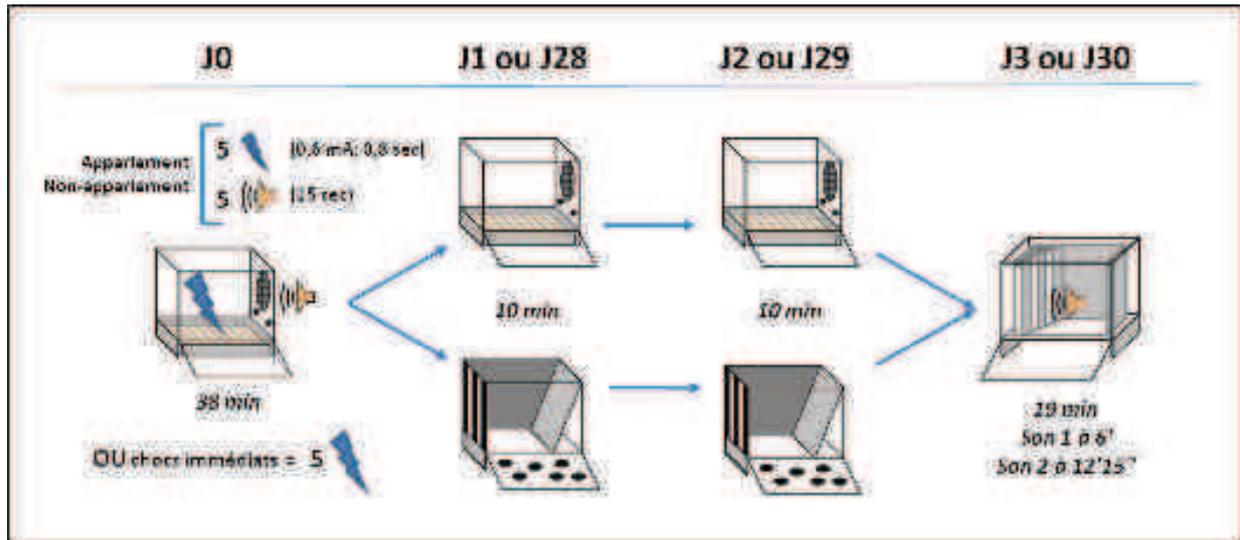


Figure 1 : Représentation schématique du protocole expérimental.

◦ *Conditionnement*

Une partie des animaux est conditionnée soit avec le protocole d'appariement (PA), soit avec le protocole de non-appariement (UP) du son et du choc, utilisés dans la première expérience. Une autre partie des animaux fait l'objet de l'administration de chocs immédiats (groupes IS). Les deux animaux d'une même cage sont apportés dans la salle de conditionnement sur un chariot recouvert, et placés simultanément dans deux boîtes de conditionnement adjacentes. Sitôt la façade de ces boîtes refermée, les cinq chocs électriques (intensité et durée identiques à ceux utilisés dans les autres procédures) leurs sont administrés à un intervalle d'une seconde entre le début de deux chocs consécutifs après quoi les animaux sont rapidement retirés des boîtes et replacés dans leur cage d'élevage avant d'être ramenés dans l'animalerie. L'ensemble de l'exposition au contexte de conditionnement ne dure pas plus d'une quinzaine de secondes. L'ordre de passation des séries de conditionnement et d'administration de chocs immédiats est contrebalancé au sein de la même journée.

◦ *Tests*

Passé un délai de 24 heures (groupes 24h) ou de 28 jours (groupes 28j), les animaux sont exposés une première fois (Test 1) au contexte de conditionnement (groupes Cond) ou au contexte modifié (groupes Modif) pour une durée de 10 minutes, leur transport en salle d'expérimentation faisant l'objet des mêmes procédures que celles décrites dans la première expérience. Quatre animaux (deux cages d'élevage) sont testés simultanément, les contextes

auxquels ils sont exposés étant contrebalancés. Entre deux séries de test, les boîtes sont nettoyées à l'eau.

Les animaux sont réexposés le lendemain aux contextes dans les mêmes conditions (Test 2). Le jour suivant, la peur au son est évaluée au cours d'une séance de 19 minutes dans le troisième contexte (Test au son 1). Après une période de six minutes durant laquelle aucun son n'est présenté, permettant d'évaluer le niveau de peur au contexte dans lequel sera présenté le son, le même son que celui employé lors de la séance de conditionnement (15 s) est présenté à deux reprises, chacune de ces présentations étant suivie d'une période de 6 min

- *Quantification du freezing*

Le *freezing* est codé automatiquement à l'aide d'un logiciel mesurant les variations de contraste des images captées seconde par seconde par les caméras des boîtes de conditionnement (logiciel Scion Image). Pour ce faire, ce logiciel soustrait à ces images celle du fond (contextes sans animaux), préalablement enregistré par les expérimentateurs. Ceci permet de n'évaluer que les variations liées au mouvement des animaux. Les fichiers obtenus correspondent aux variations, seconde par seconde, de l'écart-type de l'intensité des pixels des images recueillies pour chaque animal et sont analysés à l'aide d'une macro-commande écrite sous Excel permettant de choisir un seuil de variation minimal au delà duquel le comportement de *freezing* est considéré absent. De plus, les données obtenues par le logiciel d'acquisition sont synchronisées au début du protocole expérimental (lancement du programme dans la salle de conditionnement), dans le but d'obtenir une évaluation des réponses en lien avec des stimuli phasiques (par exemple les sons) précise à la seconde près. Cet échantillonnage est traité de manière automatisée par cette même macro-commande pour être ramené à une expression en pourcentage de temps de ce comportement, l'intervalle temporel sur lequel ce pourcentage est calculé étant défini par l'expérimentateur. Ce protocole de quantification, ainsi que le seuil de variations utilisé, a fait l'objet d'une validation expérimentale préalable et est décrit en détails par Marchand et ses collaborateurs (2003).

## 2.2. Analyse statistiques

Les données sont analysées à l'aide du logiciel STATISTICA (Statistica Softwares, v6.1, 2003). Les pourcentages moyens de *freezing* au cours des deux minutes succédant à l'administration de chaque choc électrique sont analysés par une ANOVA à mesures répétées incluant les facteurs Délai (1j ou 28j), Protocole (PA ou UP), Contexte (Cond ou Modif) et Choc (PC1 à PC5).

La peur exprimée au cours des différentes séances de test est analysée séparément pour chaque protocole d'administration des chocs électriques. L'expérience initiale ayant démontré qu'une analyse de la dynamique des réponses de peur pouvait révéler des différentiels d'expression spécifiques en fonction de la période analysée, les réponses de peur sont analysées séparément pour la peur immédiate au contexte (première minute) et pour le reste de la séance (expression maximale et extinction de la peur au contexte ; 3 x 3 minutes). La peur immédiate au contexte est analysée par ANOVA à mesure répétée incluant les facteurs Délai (1j ou 28j), Contexte (Cond ou Modif) et Test (Test 1 ou Test 2) ; l'inclusion d'une mesure répétée à cette analyse vise à déterminer l'extinction, à 24 heures, de cette peur immédiate (extinction inter-séance) La dynamique d'expression des réponses de peur au cours du reste de ces séances (extinction intra-séance, comme dans l'expérience précédente) est analysée séparément pour chacun des deux tests au contexte, par une ANOVA à mesure répétée incluant les facteurs Délai (24h ou 28j), Contexte (Cond ou Modif) ainsi que le facteur de répétition Bloc (min 2-4, min 5-7 et min 8-10). Les séances de test au son sont analysées en distinguant trois périodes : celle qui précède le premier son (peur au contexte ; 2 blocs de 3 minutes) celle de l'exposition aux sons (peur au son ; 2 sons de 15 secondes), et celle qui suit la présentation de chacun des sons (peur post-son ; 2 blocs de 3 minutes). Pour chacune de ces séances, la peur au contexte est analysée par une ANOVA à mesure répétée incluant les facteurs Délai (24h ou 28j), Contexte (Cond ou Modif) et Bloc (min 1-3 ou min 4-6). La peur au son est analysée par une ANOVA à mesure répétée incluant les facteurs Délai (24h ou 28j), Contexte (Cond ou Modif) et Son (Son 1 ou Son 2). La peur post-son est analysée par une ANOVA à mesure répétée incluant les facteurs Délai (24h ou 28j), Contexte (Cond ou Modif) et les facteurs de répétition Bloc (min 1-3 ou min 4-6) et Son (Son 1 ou Son 2). Ces différentes analyses sont suivies de tests *post-hoc* (test LSD de Fischer) si nécessaire.

### 3. Résultats

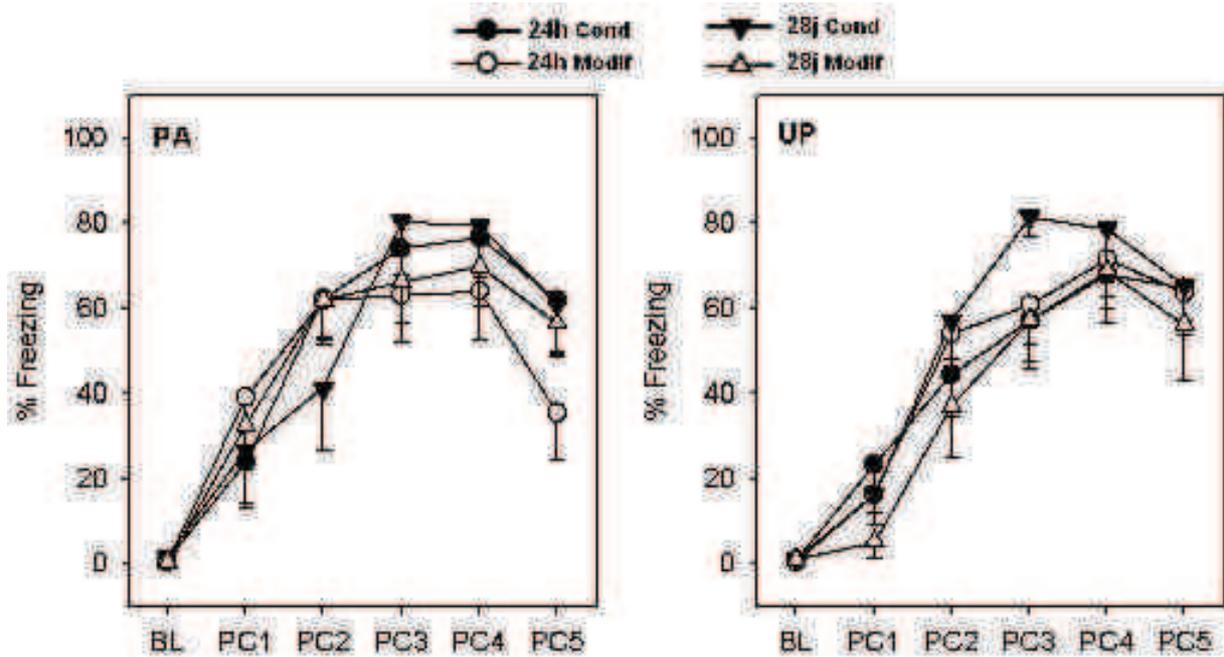
Les effectifs de chacun des groupes inclus aux analyses sont détaillés dans le tableau 1.

		24 heures	28 jours
Protocole d'appariement	Conditionnement	10	8
	Modifié	9	11
Protocole de non-appariement	Conditionnement	9	10
	Modifié	9	8
Chocs Immédiats	Conditionnement	6	8
	Modifié	6	8

**Tableau 1** : Effectifs de chacun des groupes inclus à l'analyse (N = 102)

#### 3.1. Conditionnement

La figure 2 représente les pourcentages de temps passé en *freezing* obtenus suite à l'administration des chocs électriques au cours du conditionnement des animaux des groupes PA (figure de droite) et UP (figure de gauche). Y figure également le niveau de peur de chacun des groupes durant la période qui précède l'administration du premier choc (*baseline*).

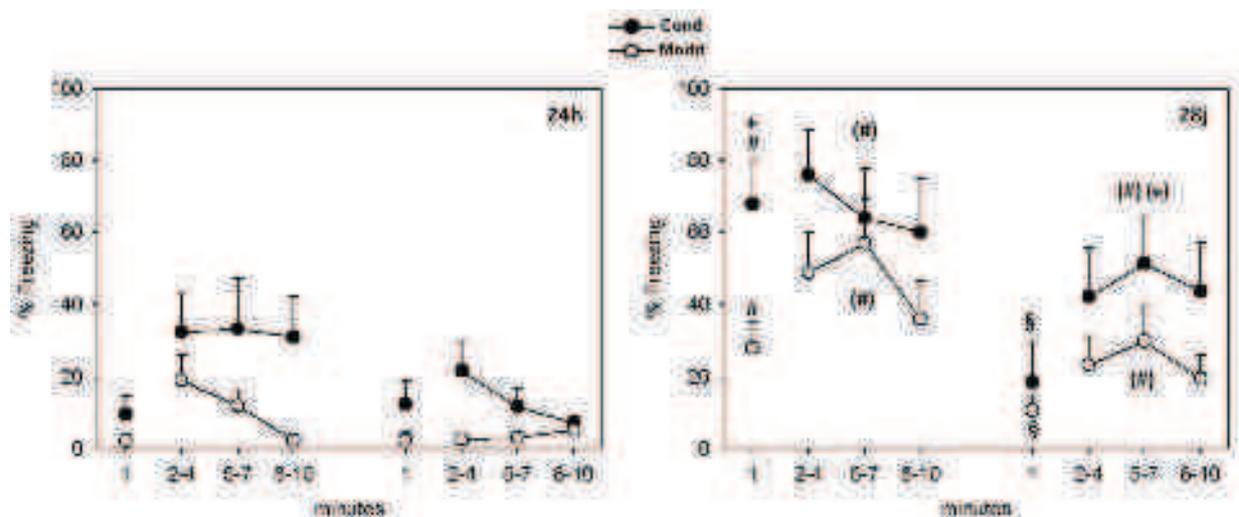


**Figure 2 :** Pourcentages moyens de *freezing* (- erreurs-types) des groupes conditionnés suite à l'administration des différents chocs électriques. Abréviations : PA = protocole d'appariement, UP = protocole de non-appariement, BL = *baseline*, PC = post-choc, Cond = tests dans le contexte de conditionnement, Modif = test dans le contexte modifié.

L'observation de cette figure suggère que pour chacun des protocoles de conditionnement, des niveaux de peur équivalents sont exprimés par les groupes d'animaux qui seront ultérieurement comparés en fonction du délai et du contexte de test. L'ANOVA confirme l'absence d'effet des facteurs Délai ( $F_{1,66} = 0,01$  ;  $p > 0,1$ ), Protocole ( $F_{1,66} = 0,5$  ;  $p > 0,1$ ) et Contexte ( $F_{1,66} = 0,7$  ;  $p > 0,1$ ), tandis qu'un effet du facteur Choc ( $F_{5,330} = 104,77$  ;  $p < 0,0001$ ) et une interaction entre les facteurs Choc et Protocole ( $F_{5,330} = 2,35$  ;  $p < 0,05$ ) sont observés. L'analyse *post-hoc* indique une augmentation progressive des niveaux de *freezing* jusqu'au troisième choc dans les deux groupes (tous les  $p < 0,01$ ), une absence de différence entre le troisième et le quatrième choc ( $p > 0,1$ ), ainsi qu'une baisse entre le quatrième et le dernier choc chez les animaux conditionnés avec un protocole d'appariement ( $p < 0,001$ ). Les pourcentages de *freezing* ne diffèrent selon le protocole qu'à l'issue du premier choc ( $p < 0,05$ ).

## 3.2. Tests au contexte

La figure 3 représente les réponses de peur exprimées par les animaux conditionnés avec un protocole d'appariement, lors des deux séances d'exposition à l'un des contextes, à délai court (figure de gauche) et délai long (figure de droite).



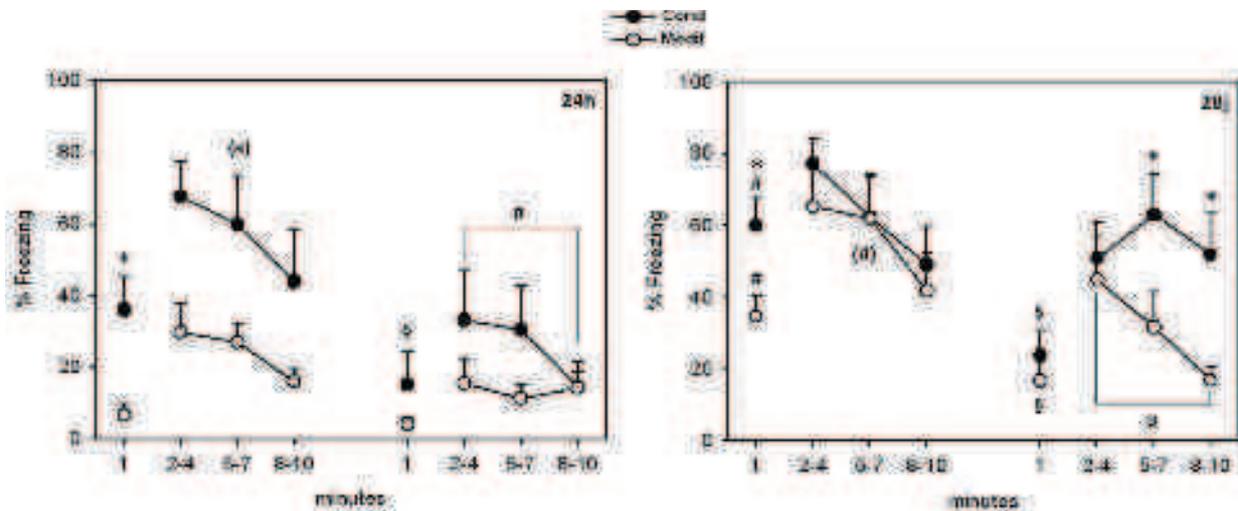
**Figure 3** : Pourcentages moyens de *freezing* (+ erreurs-types) des groupes conditionnés avec le protocole d'appariement pendant les deux tests au contexte, Test 1 (partie gauche de chaque figure) et Test 2 (partie droite de chaque figure). Abréviations : 24h = premier test à 24 heures ; 28j = premier test à 28 jours ; Cond = contexte de conditionnement ; Modif = contexte modifié. Statistiques : \* = différent du contexte modifié à la même période ; # = différent du délai de 24h à la même période ; les mêmes symboles sont placés entre parenthèses pour indiquer des effets simples des facteurs ; tous les  $p < 0,05$ .

La réponse de peur initiale (min 1) est très faible dans les deux tests au délai de 24 heures, quel que soit le contexte d'exposition. Au délai de 28 jours, elle est plus marquée lors du premier test, particulièrement dans le contexte de conditionnement et est à nouveau faible dans les deux contextes lors du deuxième test. L'ANOVA effectuée sur la première minute confirme ces observations, en indiquant des effets significatifs des facteurs Délai ( $F_{1,34} = 17,1$  ;  $p < 0,001$ ), Contexte ( $F_{1,34} = 7,5$  ;  $p < 0,01$ ) et Test ( $F_{1,34} = 20,6$  ;  $p < 0,001$ ) ainsi que de l'ensemble des interactions des différents facteurs avec le facteur Test : Test x Délai ( $F_{1,34} = 24,7$  ;  $p < 0,001$ ) ; Test x Contexte ( $F_{1,34} = 4,4$  ;  $p < 0,05$ ) ; Test x Délai x Contexte ( $F_{1,34} = 6,1$  ;  $p < 0,05$ ). L'analyse *post-hoc* effectuée sur cette triple interaction, indique une augmentation significative des pourcentages de *freezing* entre les délais de 24 heures et de 28 jours lors du premier test dans le contexte de conditionnement ( $p < 0,0001$ ) et dans le contexte

modifié ( $p < 0,01$ ). Au délai de 28 jours elle indique également un pourcentage de *freezing* plus élevé dans le contexte de conditionnement que dans le contexte modifié ( $p < 0,001$ ) et une diminution de ce pourcentage entre le premier et le second test dans les deux contextes (Cond,  $p < 0,0001$  ; Modif,  $p < 0,05$ ).

Concernant le reste des séances, lors du premier test, les niveaux de peur sont globalement plus faibles au délai de 24 heures qu'au délai de 28 jours et semblent plus important dans le contexte de conditionnement que dans le contexte modifié, particulièrement à la fin de la séance. Cependant l'ANOVA, si elle indique des effets simples des facteurs Délai ( $F_{1,34} = 12,92$  ;  $p < 0,01$ ), Contexte ( $F_{1,34} = 4,31$  ;  $p < 0,05$ ) et Bloc ( $F_{2,68} = 3,7$  ;  $p < 0,05$  : min 2-4 et min 5-7 vs min 8-10 ,  $p < 0,05$  pour chaque comparaison), aucune interaction concernant le facteur Contexte n'est significative ( $F_{\max} = 1,25$ ). Néanmoins, les comparaisons *post-hoc*, si elles indiquent que l'effet du facteur Contexte n'est pas observé lorsque les délais sont considérés séparément, indiquent que l'effet Délai est observé dans chacun des contexte ( $p < 0,05$  dans chaque cas). Lors du second test, les niveaux de peur, globalement plus faibles que lors du premier test, semblent cependant plus élevés au délai le plus long, particulièrement dans le contexte de conditionnement. De plus, à ce délai, les niveaux de peur n'évoluent que peu au cours de la séance. L'ANOVA indique des effets significatifs des facteurs Délai ( $F_{1,34} = 15,11$  ;  $p < 0,001$ ) et Contexte ( $F_{1,34} = 5,28$  ;  $p < 0,05$ ), mais pas du facteur Bloc ni des interactions entre ces facteurs ( $F_{\max} = 1,45$  pour l'interaction Délai X Bloc). Les comparaisons *post-hoc* indiquent que les pourcentages de *freezing* ne sont significativement plus élevés dans le contexte de conditionnement qu'au délai de 28 jours ( $p < 0,05$ ) et que ces pourcentages restent plus élevés dans les deux contextes à ce délai qu'au délai de 24 heures (Cond,  $p < 0,01$  ; Modifié,  $p < 0,05$ ).

La figure 4 représente les réponses de peur exprimées par les animaux conditionnés avec un protocole de non-appariement.



**Figure 4** : Pourcentages moyens de *freezing* (+ erreurs-types) des groupes conditionnés avec le protocole de non-appariement pendant les deux tests au contexte, Test 1 (partie gauche de chaque figure) et Test 2 (partie droite de chaque figure). Abréviations : 24h = premier test à 24 heures ; 28j = premier test à 28 jours ; Cond = contexte de conditionnement ; Modif = contexte modifié. Statistiques : \* = différent du contexte modifié à la même période ; # = différent du délai de 24h à la même période ; □ = différence entre les blocs ; les mêmes symboles sont placés entre parenthèses pour indiquer des effets simples des facteurs ; tous les  $p < 0,05$ .

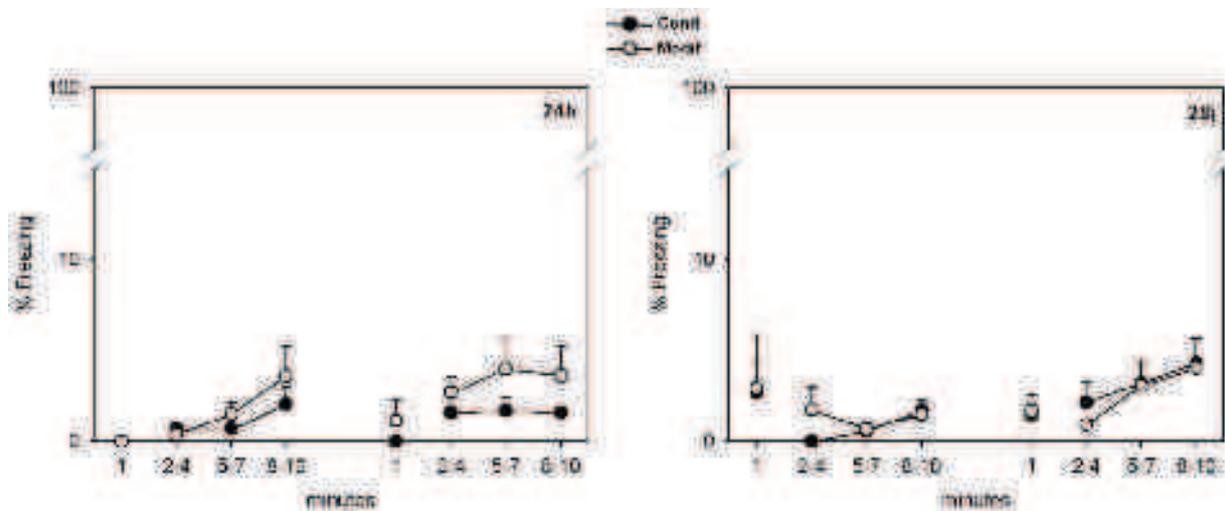
Dans ces groupes, globalement, des effets comparables à ceux observés chez les animaux conditionnés avec un protocole d'appariement sont observés, tant en ce qui concerne la peur initiale que la peur exprimées pendant le reste des séances de test, exception faite d'une différence dans les niveaux de peur lors du premier test, qui semblent nettement contrastés entre les deux contextes. Ainsi, pendant la première minute des tests (peur immédiate), l'ANOVA indique des effets significatifs des facteurs Délai ( $F_{1,32} = 8,89$  ;  $p < 0,01$ ), Contexte ( $F_{1,32} = 8,73$  ;  $p < 0,01$ ), et Test ( $F_{1,32} = 33,44$  ;  $p < 0,0001$ ) ainsi que des interactions des facteurs Délai et Contexte avec le facteur Test : Test x Délai ( $F_{1,32} = 5,18$  ;  $p < 0,05$ ) ; Test x Contexte ( $F_{1,32} = 7,43$  ;  $p < 0,05$ ). Les comparaisons *post-hoc* indiquent, lors du premier test, une augmentation significative des pourcentages de *freezing* entre les délais de 24 heures et de 28 jours dans le contexte de conditionnement ( $p < 0,05$ ) et dans le contexte modifié ( $p < 0,01$ ) et un pourcentage de *freezing* plus élevé dans le contexte de conditionnement que dans le contexte modifié au délai de 24 heures ( $p < 0,01$ ) et au délai de 28 jours ( $p < 0,05$ ), ces effets n'étant pas observés lors du deuxième test. Ces comparaisons

indiquent également une diminution des pourcentages de *freezing* entre le premier et le second test dans le contexte de conditionnement aux deux délais (24h,  $p < 0,01$  et 28j,  $p < 0,0001$ ), mais uniquement au délai de 28 jours dans le contexte modifié ( $p < 0,05$ ), le score de *freezing* étant déjà très bas au délai de 24 heures dans ce contexte, comme observé dans le groupe conditionné avec un protocole d'appariement.

En ce qui concerne le reste de la première séance de test, comme dans les groupes conditionnés avec un protocole d'appariement, l'ANOVA indique des effets simples des facteurs Contexte ( $F_{1,32} = 4,11$  ;  $p = 0,05$ ) et Bloc ( $F_{2,64} = 20,80$  ;  $p < 0,0001$  ; tous les blocs différant entre eux avec  $p < 0,05$  au minimum), un effet proche de la significativité du facteur Délai ( $F_{1,32} = 3,79$  ;  $p < 0,06$ ) et aucune interaction significative ( $F_{\max} = 1,82$ ). Les comparaisons *post-hoc* indiquent que l'effet Contexte n'est observé qu'au délai de 24 heures ( $p < 0,05$ ) et que l'effet Délai n'est observé que dans le contexte modifié ( $p < 0,05$ ).

Enfin, en ce qui concerne la deuxième séance de test, les niveaux de peur restent élevés dans le contexte de conditionnement au délai de 28 jours, comme observé dans le groupe conditionné avec un protocole d'appariement, mais semblent diminuer plus rapidement dans le contexte modifié. L'ANOVA confirme cette description et indique des effets significatifs des facteurs Délai ( $F_{1,32} = 7,26$  ;  $p < 0,05$ ), Contexte ( $F_{1,32} = 4,47$  ;  $p < 0,05$ ) et Blocs ( $F_{2,64} = 5,07$  ;  $p < 0,01$ ) ainsi que de l'interaction entre ces trois facteurs ( $F_{2,64} = 4,30$  ;  $p < 0,05$ ). Dès lors, les tests *post-hoc* permettent d'affiner la description de ces résultats en considérant, pour chacun des délais et contextes de test, la dynamique de la réduction de la peur au cours de la séance. Ainsi, si au délai de 24 heures, aucun différentiel dans les pourcentages de *freezing* n'est observé entre les deux contextes, ce pourcentage diminue significativement entre le premier et le dernier bloc dans le contexte de conditionnement (min 2-4 vs min 8-10,  $p < 0,05$ ), celui-ci étant très faible dès le premier bloc dans le contexte modifié. Par contre, au délai de 28 jours, bien que les niveaux de peur soient importants au premier bloc dans les deux contextes, une telle diminution n'est observée que dans le contexte modifié (min 2-4 vs min 8-10,  $p < 0,05$ ). Dès lors, la peur au contexte est significativement plus importante dans le contexte de conditionnement que dans le contexte modifié aux deuxièmes et troisièmes blocs (respectivement min 5-7 et min 8-10,  $p < 0,05$  dans les deux cas).

La figure 5 représente les réponses de peur exprimées par les animaux ayant reçu des chocs immédiats (un changement d'échelle a été utilisé pour exprimer les réponses comportementales de ces animaux).

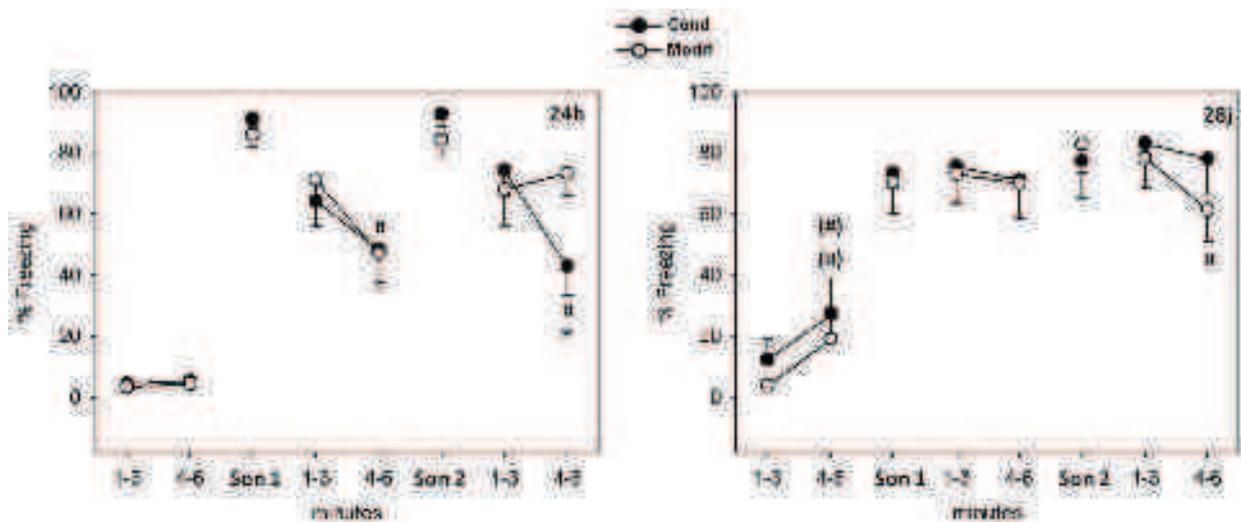


**Figure 5** : Pourcentages moyens de *freezing* (+ erreurs-types) des groupes ayant reçu des chocs immédiats pendant les deux tests au contexte, Test 1 (partie gauche de chaque figure) et Test 2 (partie droite de chaque figure). Abréviations : 24h = premier test à 24 heures ; 28j = premier test à 28 jours ; Cond = contexte de conditionnement ; Modif = contexte modifié.

Dans ces groupes, les animaux présentent des niveaux résiduels d'absence de mouvement, n'excédant pas les 5 % de codage en *freezing*. Néanmoins, ils semblent présenter une légère augmentation de ces pourcentages entre les séances. L'ANOVA effectuée sur la première minute indique une absence d'effet significative dans la réponse initiale de ces animaux ( $F_{\max} = 2,5$  ;  $p > 0,1$ ). L'analyse effectuée sur le reste des séances indique néanmoins, lors de la première exposition, un effet simple du facteur Bloc ( $F_{2,48} = 6,44$  ;  $p < 0,01$ ) soutenu par une différence significative entre le dernier bloc et les deux blocs précédents (min 8-10 vs min 2-4 et min 5-7,  $p < 0,01$  dans chaque cas), cet effet n'atteignant pas la significativité lors de la seconde exposition ( $F_{2,48} = 2,33$ ).

## 3.3. Test au son

La figure 6 représente les réponses de peur exprimées par les animaux conditionnés avec un protocole d'appariement et testés à délai court (figure de droite) ou à délai long (figure de gauche).



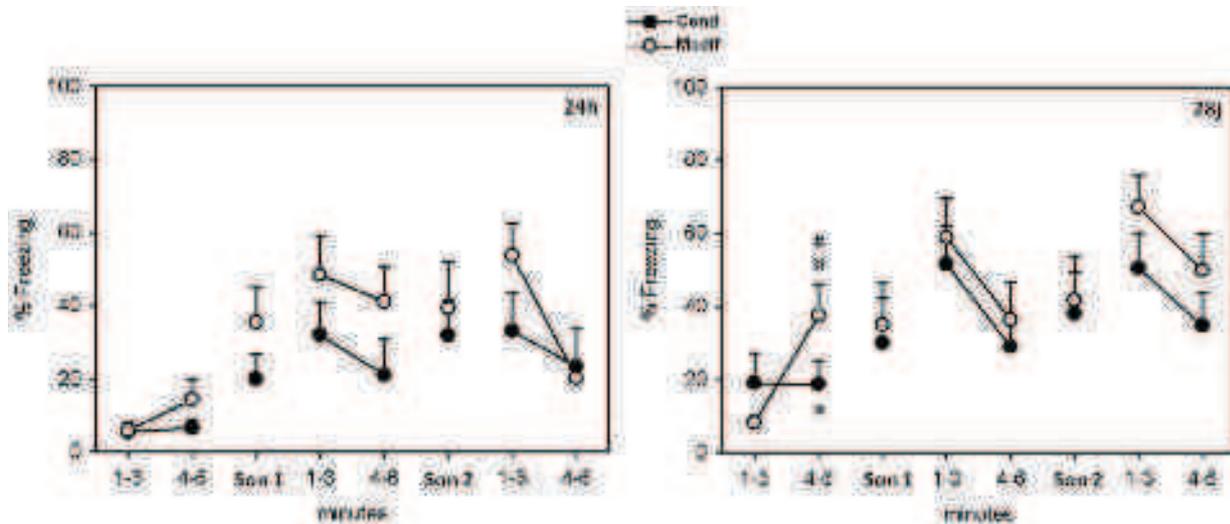
**Figure 6** : Pourcentages moyens de *freezing* (- erreurs-types) des groupes conditionnés avec le protocole d'appariement pendant le test au son. Abréviations : 24h = premier test à 24 heures ; 28j = premier test à 28 jours ; Cond = contexte de conditionnement ; Modif = contexte modifié. Statistiques : \* = différent du contexte modifié à la même période ; # = différent du délai de 24h à la même période ; □ = différence entre les blocs ; les mêmes symboles sont placés entre parenthèses pour indiquer des effets simples des facteurs ; tous les  $p < 0,05$ .

Cette figure indique des niveaux de peur au nouveau contexte très bas à 24 heures. A 28 jours, les niveaux de peur semblent augmenter entre les deux blocs, indépendamment du contexte auquel les animaux ont été précédemment exposés, et semblent plus élevés pendant le deuxième bloc à ce délai qu'au délai de 24 heures. L'ANOVA indique des effets du facteur Délai ( $F_{1,34} = 7,4$  ;  $p = 0,01$ ), du facteur Bloc ( $F_{1,34} = 8,6$  ;  $p < 0,01$ ) et de leur interaction ( $F_{1,34} = 6,6$  ;  $p = 0,01$ ), mais pas d'autres effets ( $F_{\max} = 1,2$ ). L'analyse *post-hoc* sur cette interaction confirme une augmentation significative du pourcentage de *freezing* entre les deux blocs au délai de 28 jours ainsi qu'un effet significatif du délai lors du deuxième bloc ( $p_{\max} < 0,001$ ).

La peur exprimée au cours de la présentation du son est très importante, conformément au protocole de conditionnement utilisé. Cette peur au son est très marquée, quel que soit le groupe, atteignant des niveaux quasi-maximaux d'expression. L'ANOVA confirme une absence d'effet de l'ensemble des variables sur cette peur au son ( $F_{\max} = 2,8$ ,  $p = 0,1$ , facteur Délai).

La peur exprimée après l'arrêt du son apparaît également importante dans ce groupe. A 28 jours, les réponses de peur évoquées par le premier son semblent se maintenir plus longtemps qu'à 24 heures, tandis que celles évoquées par le second son ne sont maintenues que pour une partie des animaux ; ceux exposés au contexte modifié à 24 heures et ceux exposés au contexte de conditionnement à 28 jours. L'ANOVA indique des effets significatifs du facteur Son ( $F_{1,34} = 4,2$  ;  $p < 0,05$ ), du facteur Bloc ( $F_{1,34} = 18,6$  ;  $p < 0,001$ ), ainsi que de la quadruple interaction Délai x Contexte x Son x Bloc ( $F_{1,34} = 9,3$  ;  $p < 0,01$ ). Aucun autre effet significatif n'est révélé ( $F_{\max} = 3$ ,  $p = 0,09$ , interaction Délai x Contexte x Bloc). Les tests *post-hoc* sur cette interaction confirment une réduction entre les blocs significative après le premier son à 24 heures quel que soit le contexte auquel les animaux ont été exposés ( $p_{\max} < 0,05$ ), mais aussi après le deuxième son au même délai chez les animaux exposés au contexte de conditionnement ( $p < 0,001$ ), tandis qu'à 28 jours seuls les animaux préalablement exposés au contexte modifié présentent une réduction des niveaux de peur entre les blocs après la présentation du deuxième son ( $p < 0,05$ ). La peur exprimée au second bloc est significativement plus importante après le deuxième son qu'après le premier chez les animaux exposés au contexte modifié à 24 heures ( $p < 0,001$ ).

La figure 7 représente les réponses de peur exprimées par les animaux conditionnés avec un protocole de non-appariement.



**Figure 7** : Pourcentages moyens de *freezing* (- erreurs-types) des groupes conditionnés avec le protocole de non-appariement pendant le test au son. Abréviations : 24h = premier test à 24 heures ; 28j = premier test à 28 jours ; Cond = contexte de conditionnement ; Modif = contexte modifié. Statistiques : \* = différent du contexte modifié à la même période ; # = différent du délai de 24h à la même période ; □ = différence entre les blocs ; les mêmes symboles sont placés entre parenthèses pour indiquer des effets simples des facteurs ; tous les  $p < 0,05$ .

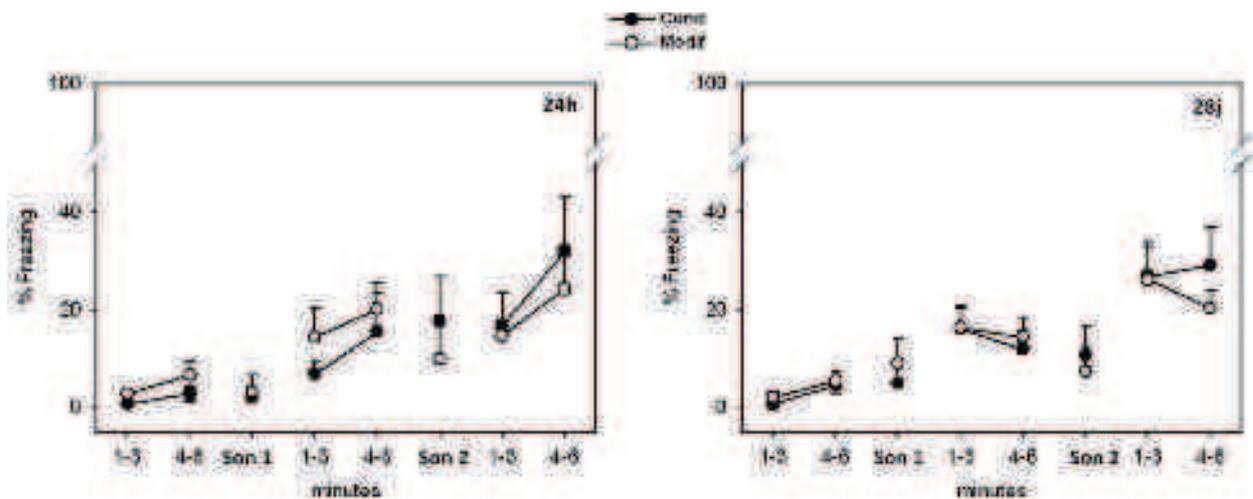
Dans ces groupes, au délai de 24 heures, les niveaux de peur au nouveau contexte sont bas. Des niveaux de peur plus importants sont observés lors de la présentation du son, mais surtout après la fin du son, conformément au protocole employé pour conditionner ces animaux. Ces niveaux ne semblent pas augmenter avec le délai séparant le conditionnement des tests. Cependant, un effet du délai semble observable sur la peur exprimée en début de protocole : les animaux préalablement exposés au contexte de conditionnement à 28 jours présentent des niveaux de peur n'augmentant pas entre les blocs, tandis que les animaux exposés au contexte modifié présentent une augmentation. Pendant les autres périodes, aucune différence marquée n'apparaît entre les groupes selon qu'ils aient été précédemment exposés au contexte de conditionnement ou au contexte modifié. Les analyses effectuées sur chacune de ces périodes confirment ces observations. Ainsi, pour la peur au nouveau contexte, l'ANOVA indique des effets des facteurs Délai ( $F_{1,32} = 722$  ;  $p = 0,05$ ), Bloc ( $F_{1,32} = 10,77$  ;  $p < 0,01$ ), ainsi qu'une interaction entre les facteurs Bloc x Contexte ( $F_{1,32} = 10,11$  ;  $p < 0,001$ ), l'interaction entre les trois facteurs approchant la significativité et ( $F_{1,32} = 3,64$  ;  $p = 0,06$ ). Les analyses *post-hoc* sur cette triple interaction confirment que l'interaction entre les facteurs Blocs et Contexte est sous-tendue par le second bloc (min 4-6) dans le groupe préalablement

exposé au contexte modifié et testé à 28 jours. Celui-ci diffère du premier bloc (min 1-3,  $p < 0,001$ ), mais également du groupe testé au même délai mais précédemment exposé au contexte de conditionnement ( $p < 0,05$ ), ainsi que de tous les autres groupes, pendant ce second bloc ( $p < 0,01$  au minimum pour toutes les comparaisons).

Pendant le son, l'absence de différences significatives liées à l'un ou l'autre des facteurs ou à leur interaction est confirmée par l'ANOVA ( $F_{\max} = 1,21$ ,  $p > 0,1$ ).

Enfin, pendant la période post-son, si l'ensemble des groupes présente au premier bloc des niveaux de peur plus importants que ceux obtenus pendant le son, ceux-ci diminuent entre les deux blocs. L'ANOVA indique ainsi un effet significatif du facteur Bloc ( $F_{1,32} = 42,66$  ;  $p < 0,0001$ ) mais pas d'effet significatif des autres facteurs ou de leur interaction ( $F_{\max} = 2,5$ ,  $p > 0,1$ ).

La figure 8 représente les réponses de peur exprimées par les groupes ayant fait l'objet d'un choc immédiat.



**Figure 8** : Pourcentages moyens de *freezing* (- erreurs-types) des groupes ayant reçu des chocs immédiats pendant le test au son. Abréviations : 24h = premier test à 24 heures ; 28j = premier test à 28 jours ; Cond = contexte de conditionnement ; Modif = contexte modifié.

De manière cohérente avec les tests précédents, les animaux des ces groupes présentent une absence d'immobilité en début de séance. Le codage en *freezing* semble néanmoins augmenter progressivement au cours de la séance, quel que soit le groupe. Ainsi, les ANOVAs indiquent des effets significatifs du facteur Bloc pendant la période initiale d'exposition au contexte ( $F_{1,24} = 17,88$  ;  $p < 0,001$ ) et du facteur Son pendant la période post-son ( $F_{1,24} = 21,44$  ;  $p < 0,001$ ).

#### 4. Discussion

##### *Le conditionnement nécessaire à la mise en place d'une incubation*

Les résultats de cette expérience confirment, tout d'abord, qu'une incubation des réponses de peur aux contextes est observée quel que soit le protocole de conditionnement utilisé, au délai de 28 jours. Ils montrent, ensuite, qu'au délai de 28 jours, les niveaux de peur exprimés lors du second test sont plus importants dans le contexte de conditionnement que dans le contexte modifié, indiquant que la primo-exposition à chacun de ces contextes, la veille, permet de mettre en évidence une discrimination à délai long. De plus, les résultats obtenus dans les groupes d'animaux exposés à des chocs immédiats semblent confirmer que la mise en place d'un conditionnement soit bien la condition *sine qua non* au développement de modifications dans l'expression des réponses de peur (Radulovic et al., 1998 ; Daviu et al., 2010 ; Pamplona et al., 2011 ; Sauerhöfer et al., 2012). La sensibilité du logiciel d'acquisition utilisé dans cette expérience pour la quantification du comportement de *freezing* est d'ailleurs bien perceptible dans ces groupes, dont le comportement a été codé comme du *freezing*, bien que leur observation *de visu* par les expérimentateurs suggère qu'ils n'ont pas présenté ce comportement au cours des séances de test, mais une cessation de l'exploration d'autant plus marquée que ces séances étaient longues (dans ce cadre, une expérience non incluse dans cette thèse et incluant des animaux témoins non-choqués, nous a permis d'obtenir un patron de cessation de l'activité similaire à celui observé dans ces groupes). Cette absence d'observation de réponses de peur dans ces groupes, même passé un délai où une incubation des réponses devrait être perceptible, suggère qu'une origine non-associative, liée au seul caractère aversif du choc électrique, ne permet pas d'expliquer les modifications comportementales induites par le conditionnement dans nos conditions expérimentales.

Lors du premier test au contexte, certaines discordances sont observées par rapport à l'expérience précédente. En effet, les animaux conditionnés au contexte en avant-plan ne présentent pas de réponses de peurs maintenues à un niveau asymptotique tout au long du test à 28 jours, observation sur laquelle nous avons basé notre hypothèse selon laquelle la généralisation serait liée à une expression anxieuse plus tardive au cours de la séance, et plus ample avec le temps. Nous avons toutefois pu observer un ensemble de modifications de la réponse de peur avec le délai. Ces modifications, nous le verrons, tendent à démontrer que

dans certaines situations, des modifications dans la dynamique d'expression de la peur au contexte, attribuables à des modifications émotionnelles, peuvent influencer les réponses de peur sans que celles-ci ne soient marquées par une exacerbation sur l'ensemble de la séance.

### *Indices d'une discrimination du contexte*

Tout d'abord, nos résultats montrent que le contexte de conditionnement fait l'objet d'une réponse de peur immédiate plus importante que le contexte modifié à 28 jours, délai où cette réponse est suffisamment importante pour pouvoir mettre en évidence un différentiel marqué et ceci quel que soit le protocole de conditionnement. Il semblerait donc bien qu'une reconnaissance immédiate du contexte de conditionnement par les animaux soit mise en place, ce fait apparaissant cohérent avec l'ensemble de données obtenues suggérant que des mécanismes de traitement de l'information différents soient mis en place par les animaux en réponse à l'exposition à l'un ou l'autre des contextes. En effet, nos résultats suggèrent que la régulation de l'expression de la peur conditionnée, amenant à sa diminution au cours d'une première séance d'exposition, correspond, comme nous l'avions présumé précédemment, à la mise en jeu de processus différents en fonction du contexte. Ainsi, mis à part les animaux conditionnés à un contexte en arrière-plan et testés à 24 heures dans le contexte modifié (présentant des niveaux de peur très bas), nous observons une réduction de l'amplitude des réponses de peur à la fin de la première séance. Cette diminution amène à des niveaux de peur moins importants lorsque les animaux sont réexposés au même contexte le lendemain, ce qui suggère qu'elle corresponde à un apprentissage inhibiteur. Si chez les animaux ainsi exposés au contexte de conditionnement cet apprentissage peut être attribuable à la mise en place d'une extinction de la peur au contexte de conditionnement, l'exposition au contexte modifié semble induire des modifications différentes sur le plan de la dynamique d'expression des réponses de peur. Nous observons en effet une dissociation dans les effets induits par l'exposition à l'un ou l'autre de ces contextes sur la peur exprimée lors de la réexposition à ce même contexte, et ce en fonction du délai. En effet, à délai court, les réponses de peur évoquées par les deux contextes sont globalement moins importantes lors de la seconde exposition, tout au long de la séance de réexposition. Or, à un délai plus long où nous avons démontré la mise en place de modifications comportementales, une primo-exposition induit des effets différents en fonction du contexte : seul le contexte modifié semble provoquer une diminution marquée des niveaux de peur. L'extinction du contexte de conditionnement ne

semble se manifester, à 28 jours, qu'à travers la réponse de peur en début de séance. De manière cohérente avec l'analyse de la peur immédiate, démontrant une réduction entre les tests, il semblerait que la reconnaissance effective du contexte amène, lors du second test, au recrutement du souvenir de l'extinction.

### *Tenants de l'expression d'une peur tardive*

S'il permet bien de réduire la peur au début de la seconde exposition au contexte de conditionnement, probablement liée à la reconnaissance du contexte, le rappel de cette extinction semble incapable de réguler les niveaux de peur exprimés à la fin de cette deuxième séance. Il semblerait donc que l'incubation induise une augmentation de la durée d'expression des réponses de peur insensible à une extinction du contexte. Cette augmentation, cohérente avec l'hypothèse selon laquelle la peur au contexte représenterait un état émotionnel d'anxiété, se manifestant lui-même de manière temporellement plus diffuse (Lee & Davis 1997 ; Walker & Davis 1997 ; Luyten et al., 2011), semble ne pouvoir être régulée que par l'exposition à un nouveau contexte. Les processus impliqués par cette dernière semblent donc divergents de ceux induits par une extinction du contexte de conditionnement. Une première hypothèse explicative serait que l'exposition à un nouveau contexte amène à une habituation aux aspects généraux des séances de conditionnement (transport, mise en boîte, expérimentateurs...), aspects généraux évocateurs d'une réponse d'anxiété car moins directement associés au SI que le contexte. Cependant, aucun argument ne nous permet d'affirmer qu'un tel apprentissage ne puisse pas se mettre en place de manière équivalente lors de l'exposition au contexte de conditionnement sans administration de chocs, ces aspects généraux étant également présents lors de l'extinction. Une hypothèse alternative consisterait en un allègement d'une néophobie exacerbée par l'incubation. Les animaux exposés à un nouveau contexte apprendraient que de manière générale, l'exposition à une nouvelle boîte n'est pas signe d'un événement aversif. Or, un tel apprentissage ne semble pas mis en place, tout au moins chez les animaux conditionnés au contexte en avant-plan. En effet, lors de l'exposition à un nouveau contexte (celui du test au son, Figure 7) seuls ceux ayant été exposés au contexte de conditionnement ne présentent pas une augmentation des réponses de peur. Le fait qu'une telle augmentation ne soit présente qu'à délai long dans ces groupes exposés au contexte modifié suggère, de plus, que si l'incubation pouvait se manifester par une néophobie, celle-ci, contre-carrée par l'extinction du contexte initial, semblerait dépendre

du rappel de la / les association(s) du contexte de conditionnement. Ici encore, la réponse exacerbée aux nouveaux environnements semblerait moins liée aux aspects généraux de nouveauté. Le degré d'ambiguïté entre un contexte inconnu et le contexte initial semblerait plus déterminante : un effet de l'extinction du contexte de conditionnement sur la peur à de nouveaux contextes suggère que ce soit bien une comparaison entre ces contextes qui amène les animaux à progressivement mettre en place une réponse de peur au cours de la séance. Cette influence de l'association au contexte de conditionnement suggère une troisième hypothèse alternative : ce serait le niveau de conflit entre différentes associations du contexte qui amènerait à la mise en place de réponses plus diffuses. En effet, l'émergence d'une anxiété a été proposée comme due à la présence d'un conflit entre des réponses comportementales antagonistes (McNaughton et Corr, 2004), et il est admis que l'extinction d'un contexte conditionné constitue un nouvel apprentissage (antagoniste au premier) plutôt qu'une dégradation de l'association initiale (Bouton, 2002 ; Myers & Davis, 2002 ; Delamater, 2004). Lors de la première exposition au contexte modifié, les animaux associeraient ce nouveau contexte à l'absence de délivrance de choc électrique. Cette association inhibitrice, n'entrant pas en compétition avec une association excitatrice entre le choc et ce contexte lors de la seconde exposition, ne provoquerait pas l'évocation d'une réponse d'anxiété. Cette anxiété étant liée à l'ambiguïté de la situation expérimentale dans sa capacité à prédire l'arrivée d'un choc électrique, ce serait l'évocation conjointe de deux associations antagonistes (situation de conflit) qui amèneraient les animaux exposés au contexte de conditionnement à ne pas bénéficier d'effets de l'extinction sur les réponses tardives. L'extinction agirait sur la réponse de peur (rapidement mise en place et de plus courte durée) mais n'empêcherait pas l'expression d'une anxiété évoquée par la co-activation des deux traces excitatrice et inhibitrice. Cette hypothèse, bien que spéculative, apparaîtrait cohérente avec les caractéristiques anatomo-fonctionnelles suggérées par l'expérience précédente. Un recrutement accru du noyau du lit de la strie terminale peut en effet être directement mis en lien avec l'augmentation de l'expression d'une peur tardive, et l'implication plus importante avec le délai du cortex préfrontal médian (notamment du cortex cingulaire) pourrait refléter son implication dans l'évaluation du risque et le contrôle cognitif des conflits entre des réponses comportementales antagonistes.

### *Incubation spécifique à la peur au contexte*

Enfin, le test de la peur au son semble appuyer l'idée que l'incubation ne se manifeste que dans les réponses de peur exprimées en réponse aux contextes. En effet, aucune modification avec le délai n'a été montrée dans cette séance, excepté au niveau de la peur au contexte dans lequel ce test a lieu. Le fait que la peur au son, chez les animaux conditionnés avec un protocole d'appariement, ne fasse pas l'objet de modifications avec le délai, semble bien confirmer l'implication majeure de traitements liés à l'anxiété évoquée par des contextes dans cet effet. Cependant, nous noterons que ces animaux présentent des niveaux de peur maximaux au son, n'autorisant que peu de variations liées aux conditions expérimentales.

### 5. Conclusion

En résumé, les données obtenues suggèrent que la mise en place de l'incubation dépende bien d'une association entre le contexte et le SI. Cette incubation n'apparaissant pas de manière manifeste sur la peur au son, il semblerait que la représentation contextuelle soit au cœur des modifications mises en place. Ainsi, conformément à l'hypothèse émise dans notre première expérience, nos résultats suggèrent que l'incubation puisse se manifester par des différences dans la dynamique d'expression des réponses de peur. En effet, il semblerait que celles-ci puissent être distinguées en deux sous-parties : une réponse précoce, d'une durée de quelques minutes, correspondant au rappel de l'information contextuelle et modulée par l'extinction du contexte, et une réponse tardive, témoignant de l'anxiété des animaux, n'étant que peu sensible (ou plus résistante) à cette extinction. Nos résultats soulignent aussi que même à un délai de 28 jours, où nous n'avons pas démontré de discrimination nette dans les réponses de peur en dehors de la première minute d'exposition, les animaux disposent bien d'une représentation contextuelle détaillée (condition nécessaire à la mise en place de traitements différents).

Enfin, nos données suggèrent, particulièrement dans les groupes conditionnés au contexte en avant-plan, que ce soit bien le traitement de cette représentation contextuelle qui amène les animaux à présenter une peur à des environnements inconnus. En effet, si

l'exposition à un contexte différent du contexte initial semble permettre une réduction des réponses de peur lors d'un second test, celle-ci n'apparaît que si les animaux sont à nouveau exposés à ce même contexte différent. Seule l'extinction du contexte de conditionnement semble affecter la peur exprimée lors de l'exposition un contexte jamais rencontré par l'animal. L'exposition à un contexte différent semble ainsi capable de réguler les réponses de peur exprimées de manière exacerbée à délai long sans affecter les mécanismes associatifs liés au contexte de conditionnement. Ses effets étant dissociables de ceux d'une extinction à proprement parler, il serait envisageable que l'exposition à un nouveau contexte, avant le premier test dans le contexte de conditionnement ou le contexte modifié, puisse permettre d'observer une discrimination effective à des délais où, dans notre première expérience, les niveaux saturés de *freezing* ne nous permettaient pas de conclure quant à l'existence d'une représentation mnésique détaillée sous-jacente.

**EXPERIENCE 2 :***1. Introduction*

L'idée selon laquelle l'exposition à un contexte différent de celui utilisé pour le conditionnement, le jour précédant un test de la peur au contexte, puisse induire une réduction des niveaux de peurs n'impliquant pas d'extinction de l'association du contexte aux chocs électriques, est suggérée par les résultats d'une expérience réalisée par Golub et ses collaborateurs en 2009. Ces auteurs ont en effet cherché à évaluer l'effet d'une extinction, les jours suivants directement la séance de conditionnement ou passé un délai de 28 jours, sur la généralisation des réponses de peur au contexte dans un modèle de stress post-traumatique chez la Souris (un choc de forte intensité - 1,5 mA - délivré dans un contexte). Ce faisant, ils ont utilisé deux contextes différents du contexte initial auxquels ils ont exposés les animaux avant de tester leur peur au contexte de conditionnement. Ainsi, ces auteurs rapportent, dans des groupes témoins n'ayant pas fait l'objet d'une extinction, que cette procédure n'empêche pas la mise en évidence d'une peur au contexte de conditionnement marquée et semblant plus importante que celle observée dans le contexte modifié auquel ils ont été exposés la veille.

Dans cette expérience, nous avons cherché à évaluer si un tel différentiel pouvait être mis en évidence dans des conditions similaires à celle de notre expérience initiale (immunomarquage de la protéine c-Fos), à un délai où nous avons proposé que la généralisation des réponses de peur puisse principalement être liée à l'atteinte d'un niveau saturé d'expression de la peur lié à une incubation. De plus, dans l'expérience précédente, nous avons proposé que la réduction de la peur à un contexte modifié ait pu faire intervenir la mise en place d'une association inhibitrice spécifique à ce contexte, tout au moins dans les groupes conditionnés au contexte en avant-plan, permettant d'expliquer l'augmentation des niveaux de peur lors de l'exposition à un troisième contexte n'ayant pas lui-même fait l'objet d'un tel apprentissage. Or, cette hypothèse nous amènerait à considérer qu'une exposition à un nouveau contexte pourrait avoir des effets différents de ceux d'une pré-exposition au

contexte modifié, lors de l'évaluation de la peur à ce dernier. En d'autres termes, si un autre contexte devait n'avoir pour effet qu'une réduction globale des niveaux de peur, on pourrait s'attendre, selon nos hypothèses, à ce qu'une peur dans le contexte modifié se manifeste en dépit de cette manipulation préalable, en particulier à délai long et sur la fin de la séance (qui correspondrait à une anxiété exacerbée à délai long en réponse à un contexte ambigu vis-à-vis de sa capacité à prédire l'arrivée d'un événement aversif). Ainsi, nous pourrions nous attendre à observer, comme précédemment, une augmentation progressive des réponses de peur au cours de la séance chez les animaux exposés au contexte modifié, une extinction du contexte de conditionnement nous étant préalablement apparue nécessaire pour contre-carrer cette augmentation à délai long. Pour tester ces hypothèses, nous avons donc conditionné des animaux au contexte en avant-plan ou en arrière-plan et, 24 heures ou 28 jours plus tard, exposé ces animaux à un nouveau contexte le jour précédant le test de la peur au contexte, celui-ci ayant lieu soit dans le contexte de conditionnement, soit dans le contexte modifié comme dans nos expériences précédentes.

## 2. Matériels et Méthodes

### ◦ *Sujets*

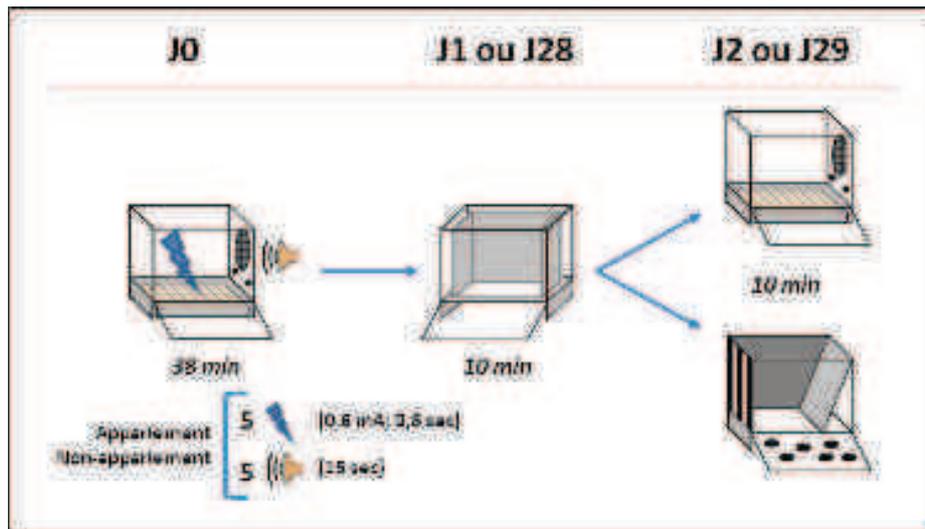
Un total de 100 rats mâles Long Evans ( $319 \pm 1,4$  g) provenant du centre d'élevage R. Janvier (France) et hébergés dans les mêmes conditions que celles de la première expérience sont utilisés pour cette étude.

### ◦ *Matériels*

Les boîtes de conditionnement utilisées pour le conditionnement et le test de peur au contexte (et les deux contextes correspondant) sont les mêmes que dans les expériences précédentes, c'est pourquoi ils ne seront pas détaillés. Pour l'exposition précédant le test de la peur au contexte, les mêmes boîtes que celles utilisées précédemment pour le test de la peur au son sont utilisées, à l'exception de la plaque de plastique peinte qui est retirée. Le système de codage automatisé du comportement est le même que celui utilisé dans l'expérience précédente et ne sera pas décrit ici.

### 2.1 Procédures

La figure 1 résume le protocole expérimental mis en place dans cette expérience. La procédure de manipulation des animaux avant expérimentation est identique à celles employées dans les expériences précédentes (manipulation quotidienne avant conditionnement, ainsi qu'à 7 et 21 jours pour les animaux testés à 28 jours).



**Figure 1** : Représentation schématique du protocole expérimental.

#### ◦ Conditionnement

Les animaux sont conditionnés soit par un protocole d'appariement, soit par un protocole de non-appariement d'un son (5 présentations, 15 s, 4kHz, 10dB au-dessus du bruit de fond) et d'un choc (0,8s ; 0,6 mA). Les agencements temporels entre ces stimuli dans l'une ou l'autre condition sont identiques à ceux employés dans les expériences précédentes.

#### ◦ Tests

Passé un délai de 24 heures ou de 28 jours, les animaux sont exposés au nouveau contexte pour une durée de 10 minutes, leur transport en salle d'expérimentation faisant l'objet des mêmes procédures que celles décrites dans la première expérience. Les quatre animaux de deux cages d'élevages sont exposés simultanément. Le lendemain, ils sont re-exposés au contexte de conditionnement ou exposés au contexte modifié pour une durée de 10 minutes. Ce second test est réalisé en utilisant la même procédure expérimentale que celle décrite précédemment.

## 2.2 Analyse statistiques

Les données obtenues pendant la séance de conditionnement sont analysées de la même manière que dans l'expérience précédente. Brièvement, la peur post-choc (2 min) est évaluée par une ANOVA à mesure répétée incluant les facteurs Protocole (appariement ou non-appariement), Délai (24 h, 28 j) et Contexte (de conditionnement ou modifié). Pour chaque séance d'exposition à un contexte, deux séries d'analyses sont réalisées pour chaque protocole de conditionnement. Le pourcentage de *freezing* exprimé pendant la première minute est analysé par une ANOVA factorielle incluant les facteurs Délai (24 h, 28 j) et Contexte (de conditionnement ou modifié). Le reste de la séance est analysé par ANOVA à mesure répétée sur trois blocs de trois minutes, en tenant compte des facteurs Délai (24h, 28j) et Contexte (de conditionnement ou modifié).

3. Résultats

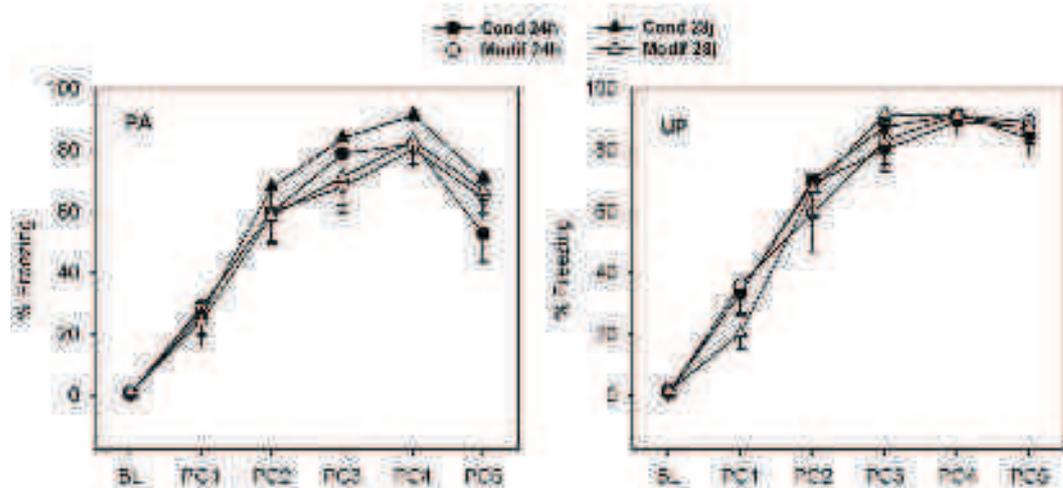
Les effectifs de chacun des groupes inclus aux analyses sont détaillés dans le tableau 1.

		24 heures	28 jours
Protocole d'appariement	Conditionnement	12	13
	Modifié	12	13
Protocole de non-appariement	Conditionnement	12	13
	Modifié	12	13

**Tableau 1** : Effectifs de chacun des groupes inclus à l'analyse (N = 100)

3.1. *Conditionnement*

La figure 2 représente les pourcentages de temps moyens de *freezing* présentés par les groupes conditionnés avec un protocole d'appariement (PA, figure de gauche) ou un protocole de non-appariement (UP, figure de droite) lors du conditionnement. Y figure également le niveau de peur de chacun des groupes durant la période qui précède la délivrance du premier choc (*baseline*). En raison d'un problème lié au système d'acquisition des données (celles-ci manquant pour les six premières minutes du conditionnement), huit animaux testés à délai court n'ont pas pu être inclus à ces analyses (deux par groupe expérimental, soit n=10).

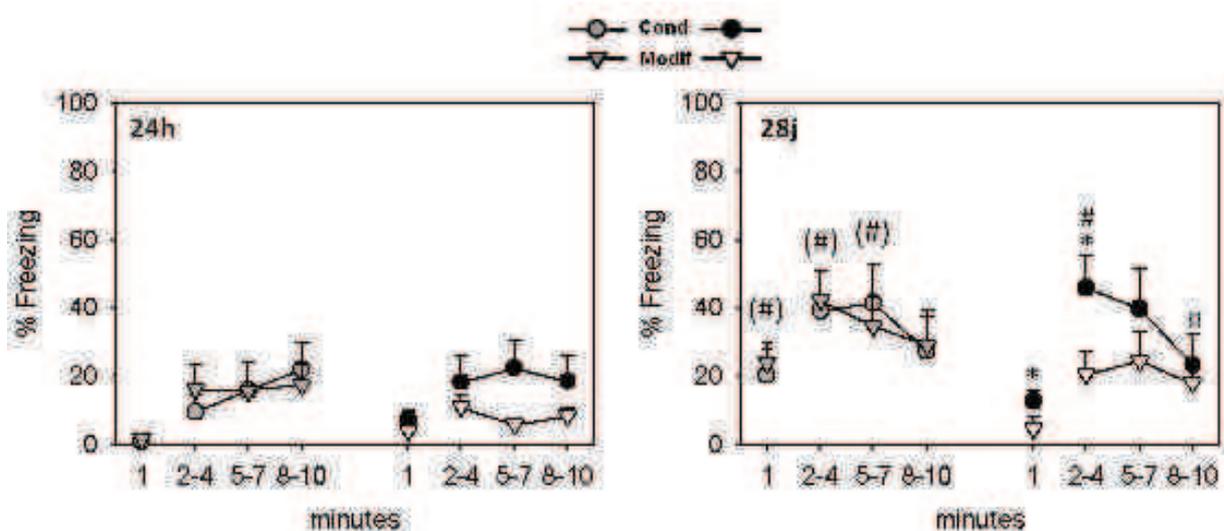


**Figure 2** : Pourcentages moyens de *freezing* (- erreurs-types) suite à l'administration des différents chocs électriques. Abréviations : PA = protocole d'appariement, UP = protocole de non-appariement, BL = *baseline*, PC = post-choc, Cond = tests dans le contexte de conditionnement, Modif = test dans le contexte modifié

L'observation de ces figures suggère un conditionnement homogène des différents groupes d'animaux exposés à chaque protocole expérimental, selon des courbes d'acquisition cohérentes avec celles obtenues précédemment. L'ANOVA confirme une absence d'effet du facteur Contexte ( $F_{1,84} = 0,7$  ;  $p > 0,1$ ) et du facteur Délai ( $F_{1,84} = 0,35$  ;  $p > 0,1$ ), un effet significatif du facteur Protocole ( $F_{1,84} = 6$  ;  $p = 0,01$ ), un effet du facteur Choc ( $F_{4,336} = 128$  ;  $p < 0,001$ ) et une interaction significative entre ces deux facteurs ( $F_{4,336} = 3,5$  ;  $p < 0,01$ ). Les analyses *post-hoc* indiquent une augmentation jusqu'au quatrième choc, puis une réduction au dernier choc du pourcentage de *freezing* exprimé par les animaux conditionnés avec un protocole d'appariement ( $p_{\max} < 0,05$ ), ainsi que l'atteinte d'un plateau au troisième choc chez les animaux conditionnés par un protocole de non-appariement ( $p_{\max} < 0,001$ , puis  $p > 0,1$ ).

### 3.2. Expositions aux contextes

La figure 3 représente les réponses de peur exprimées par les animaux conditionnés avec un protocole d'appariement lors des deux séances d'exposition à délai court (première exposition à 24h, figure de gauche) ou à délai long (première exposition à 28j, figure de droite) : au nouveau contexte (symboles en gris) puis à l'un ou l'autre des contextes de test (symboles en noir ou blanc),



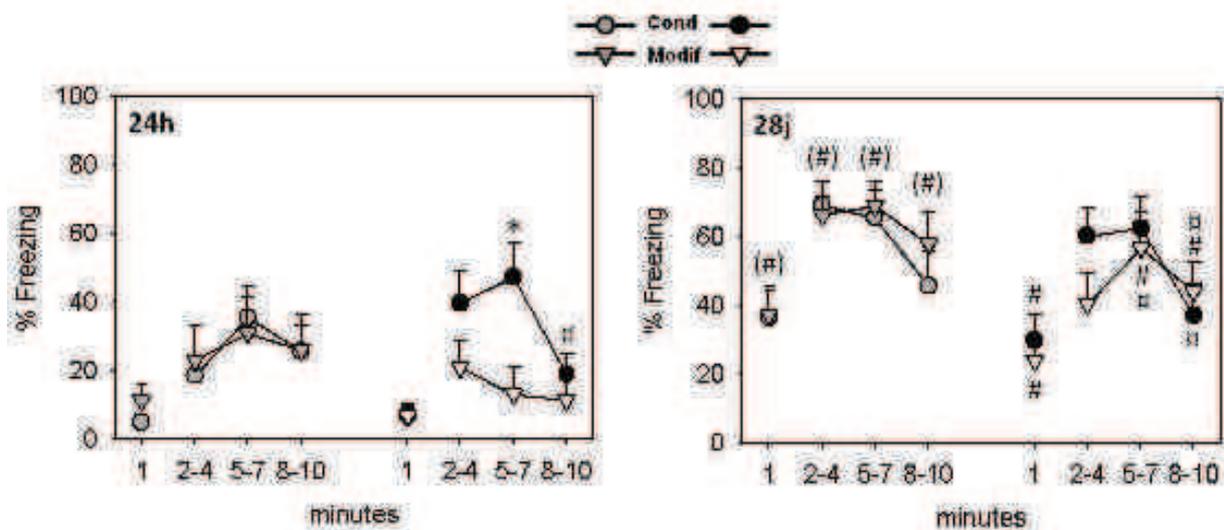
**Figure 3** : Pourcentages moyens de *freezing* (+ erreurs-types) des groupes conditionnés avec un protocole d'appariement pendant la séance d'exposition au nouveau contexte (en gris) puis le test de la peur au contexte (de conditionnement en noir, modifié en blanc). Abréviations : 24h = premier test à 24 heures ; 28j = premier test à 28 jours ; Cond = contexte de conditionnement ; Modif = contexte modifié. Statistiques : \* = différent du contexte modifié à la même période ; # = différent du délai de 24h à la même période ; □ = différent du bloc précédent ; les mêmes symboles sont placés entre parenthèses pour indiquer des effets simples des facteurs ; tous les  $p < 0,05$

Cette figure indique que la réponse des animaux à l'exposition au nouveau contexte induit des réponses comparables quel que soit le contexte auquel les animaux sont exposés le lendemain. Au délai de 24 heures, les scores de *freezing* sont faibles dans ces groupes. L'incubation des réponses de peur semble se manifester par une augmentation des pourcentages de *freezing* au cours de la première minute et des premiers blocs du reste de la séance. L'ANOVA effectuée sur la première minute confirme la présence d'un effet significatif du facteur Délai ( $F_{1,46} = 16,8$  ;  $p < 0,001$ ), mais pas du facteur Contexte ni de leur interaction ( $F_{\max} = 1,6$ ). L'ANOVA sur le reste de cette séance indique également un effet significatif du facteur Délai ( $F_{1,46} = 6,1$  ;  $p < 0,05$ ) une interaction entre ce facteur et le facteur Bloc ( $F_{2,92} = 3,8$  ;  $p < 0,05$ ), mais pas d'effet des autres facteurs ni de leur interaction. Les comparaisons *post-hoc* confirment des niveaux plus importants avec le délai sur les premiers blocs (min 2-4 et min 5-7,  $p < 0,05$  pour chacune des comparaisons).

Concernant le test au contexte, la peur immédiate des animaux est très faible aux deux délais et ne semble pas différer de manière marquée entre les deux contextes bien qu'un léger différentiel soit observé à 28 jours. L'ANOVA, si elle indique que les pourcentages de *freezing* ne diffèrent globalement pas entre les groupes 24h et 28j, indique cependant un effet significatif du facteur Contexte ( $F_{1,46} = 4,1$  ;  $p < 0,05$  ; autres  $F_{\max} = 1,1$ ). L'analyse *post-hoc* attribue cet effet au seul délai de 28 jours ( $p < 0,05$ ).

Ce différentiel initial semble se maintenir sur le début du reste de la séance. Les animaux testés à 24 heures présentent alors des pourcentages de *freezing* faibles tout au long de la séance, tandis que les animaux testés à 28 jours dans le contexte de conditionnement présentent une diminution progressive de ces pourcentages. Ces observations sont partiellement confirmées par l'ANOVA qui indique un effet du facteur Contexte ( $F_{1,46} = 4,6$  ;  $p < 0,05$ ) et du facteur Délai ( $F_{1,46} = 5,4$  ;  $p < 0,05$ ), mais pas d'effet simple ni d'interaction avec le facteur Bloc ( $F_{\max} = 1,5$ ). Les comparaisons *post-hoc* attribuent néanmoins les effets du contexte et du délai au premier bloc du test à 28 jours ( $p_{\max} < 0,05$ ), tout en révélant une baisse significative du *freezing* entre les deuxième et troisième blocs chez les animaux exposés au contexte de conditionnement à délai long ( $p < 0,05$ ).

La figure 4 représente les réponses de peur exprimées par les animaux conditionnés avec un protocole de non-appariement.



**Figure 4** : Pourcentages moyens de *freezing* (+ erreurs-types) des groupes conditionnés avec un protocole de non-appariement pendant la séance d'exposition au nouveau contexte (en gris) puis le test de la peur au contexte (de conditionnement en noir, modifié en blanc). Abréviations : 24h = premier test à 24 heures ; 28j = premier test à 28 jours ; Cond = contexte de conditionnement ; Modif = contexte modifié. Statistiques : \* = différent du contexte modifié à la même période ; # = différent du délai de 24h à la même période ; □ = différent du bloc précédent ; les mêmes symboles sont placés entre parenthèses pour indiquer des effets simples des facteurs ; tous les  $p < 0,05$

Dans ces groupes également, les niveaux de peur exprimés dans le nouveau contexte sont de niveaux comparables entre les groupes exposés le lendemain à l'un ou l'autre des contextes. L'incubation semble se manifester par une augmentation avec le délai des pourcentages de *freezing* pendant la première minute ainsi que pendant le reste de la séance. L'ANOVA sur la première minute de test indique un effet significatif du facteur Délai ( $F_{1,46} = 20,3$  ;  $p < 0,001$ ) mais pas du facteur Contexte ni de leur interaction ( $F_{\max} = 0,3$ ). L'ANOVA effectuée sur le reste de la séance indique un effet du facteur Délai ( $F_{1,46} = 22,7$  ;  $p < 0,001$ ), du facteur Bloc ( $F_{2,92} = 5,4$  ;  $p < 0,01$ ) ainsi que de l'interaction entre ces deux facteurs ( $F_{2,92} = 4,7$  ;  $p < 0,01$  ; autres  $F_{\max} = 1,1$ ). Les comparaisons *post-hoc* indiquent que les pourcentages de *freezing* sont significativement plus importants au délai de 28 jours qu'au délai de 24 heures pour chacun des blocs ( $p_{\max} < 0,01$ ). Elles indiquent également une réduction des pourcentages de *freezing* au troisième bloc dans le groupe 28j (min 2-4 et min 5-7 vs min 8-10,  $p < 0,01$  pour chaque comparaison) et une augmentation de ces pourcentages entre le premier et le deuxième bloc dans le groupe 24h (min 2-4 vs min 5-7,  $p < 0,05$ ).

Lors du test au contexte, la réponse de peur initiale ne semble pas marquer de différentiel en fonction du contexte d'exposition, quel que soit le délai, bien qu'elle semble plus importante à un délai de 28 jours. Ceci est confirmé par l'ANOVA réalisée sur la première minute de test, qui montre un effet uniquement du facteur Délai ( $F_{1,46} = 11,2$  ;  $p < 0,01$  ; autres  $F_{\max} = 0,3$ ) que les comparaisons *post-hoc* indiquent être significatif quel que soit le contexte d'exposition ( $p_{\max} < 0,05$ ).

Cette incubation semble également se manifester dans les deux contextes au cours du reste de la séance, mais des différences liées au contexte semblent émerger, bien que de manière plus nette dans les groupes testés à délai court. Dans ces groupes, les pourcentages de *freezing* sont faibles tout au long de la séance dans le groupe exposé au contexte modifié et sont plus importants dans le groupe exposé au contexte de conditionnement en début de séance puis diminuent. Dans les groupes testés au délai de 28 jours, les pourcentages de *freezing* semblent plus élevés dans les deux contextes et un différentiel entre ces contextes ne semble présent qu'en début de séance. L'ANOVA indique un effet du facteur Délai ( $F_{1,46} = 9,9$  ;  $p < 0,01$ ) et du facteur Bloc ( $F_{1,46} = 14,7$  ;  $p < 0,001$ ). Si le facteur Contexte ne tend qu'à marquer une différence globale entre les groupes ( $F_{1,46} = 2,7$  ;  $p = 0,1$ ), une interaction significative entre ce facteur et le facteur Bloc est indiquée ( $F_{2,92} = 5,9$  ;  $p < 0,01$ ), et l'interaction entre ce facteur et les deux autres est proche de la significativité ( $F_{2,92} = 2,62$  ;  $p = 0,07$ . Autres  $F_{\max} = 1,1$ ). Les comparaisons *post-hoc* montrent un effet du contexte uniquement chez les animaux initialement testés à 24 heures, au second bloc (min 5-7,  $p < 0,01$ ). Elles indiquent également que l'effet du délai n'est significatif que dans les groupes exposés au contexte modifié, au cours des deuxième et troisième blocs (min 5-7 et min 8-10,  $p_{\max} < 0,01$ ). Enfin, une réduction des niveaux de peur à la fin de la séance (min 8-10) est observée dans les deux contextes au délai de 28 jours ( $p_{\max} < 0,05$ ), tandis que la peur dans le contexte modifié à ce délai augmente entre les premier et deuxième blocs ( $p < 0,01$ ).

#### 4. *Discussion*

Les résultats de cette expérience montrent, tout d'abord, que l'exposition des animaux à un contexte nouveau, la veille du test au contexte, semble avoir eu l'effet escompté, à savoir une réduction des niveaux de peur exprimés lors de ce test par rapport à ceux observés dans nos expériences précédentes. Cet effet semble se manifester quel que soit le délai et le protocole de conditionnement utilisé. Nos résultats montrent également que si cette exposition n'empêche pas la mise en évidence d'une discrimination de contexte chez les animaux conditionnés au contexte en avant-plan au délai court, elle le fait à délai long. A ce délai, une incubation des réponses de peur se manifeste principalement dans le contexte modifié, amenant à des niveaux de peur similaires à ceux obtenus dans le contexte de conditionnement. A ce délai, une discrimination de contexte est cependant mise en évidence dans le groupe conditionné au contexte en arrière-plan.

Les résultats obtenus lors de l'exposition au contexte nouveau semblent cohérents avec ceux obtenus lors de l'exposition au contexte modifié dans l'expérience précédente et confirment la présence d'une incubation de la peur généralisée à un nouveau contexte à 28 jours, celle-ci étant détectable dès la première minute d'exposition au contexte nouveau et quel que soit le protocole de conditionnement utilisé. Néanmoins, les effets de l'exposition au nouveau contexte sur le deuxième test semblent diverger en fonction de ces protocoles. Ainsi, selon que le contexte ait été conditionné en avant-plan ou en arrière-plan, on observe ou pas une réduction de la peur observée lors d'une exposition au contexte modifié suite à une première séance dans un contexte inconnu.

Chez les animaux conditionnés avec un protocole d'appariement (contexte en arrière-plan, Figure 3), des effets comparables sont observés entre ces deux expériences : les niveaux de peur lors du second test, dans le contexte modifié, restent à des niveaux très bas. De plus, l'exposition au nouveau contexte semble suffisante chez ces animaux pour contrecarrer l'expression d'une incubation des réponses de peur exprimées lors de leur exposition au contexte modifié. Ceci suggère que dans ces groupes, l'exposition à un nouveau contexte, quel qu'il soit, réduit les niveaux de peur exprimés par la suite dans un contexte, pour peu qu'il soit différent de celui dans lequel les animaux ont été conditionnés. La réponse de peur

généralisée observée à délai long semblerait donc, chez ces animaux, être liée aux aspects généraux de la tâche (salle de test, manipulation par l'expérimentateur, placement dans une boîte par exemple). Si cette peur aux caractéristiques générales de l'exposition semble déterminante dans l'expression de la peur à des contextes inconnus, nous noterons qu'elle ne permet toutefois pas de rendre compte de la peur exprimée lors de l'exposition au contexte de conditionnement. En effet, nous observons toujours une réponse de peur marquée dans ce contexte et un différentiel avec le contexte modifié. Ceci suggère que l'absence de discrimination observée à un délai de 28 jours dans notre expérience initiale, n'indiquerait pas d'oubli du contexte de conditionnement, mais plutôt que ce serait l'incubation de la peur en réponse aux aspects généraux de la tâche qui ait amené les animaux conditionnés au contexte en arrière-plan à exprimer une réponse de peur comparable lors de l'exposition au contexte modifié.

Chez les animaux conditionnés au contexte en avant-plan (Figure 4) par contre, au délai long, alors que, dans l'expérience précédente, une diminution des réponses de peur était observée lors de la seconde exposition au contexte modifié, on constate ici des niveaux de peur plus élevés qu'à délai court lors du test dans ce contexte, conformément à notre hypothèse. Chez ces animaux, la peur exprimée à délai long dans des contextes différents du contexte de conditionnement ne peut être réduite que si ce dernier a fait l'objet d'une extinction, ou si ce contexte différent est déjà connu (et dissocié du l'apparition du choc). De plus, les réponses de peur semblent ici augmenter au cours de la deuxième séance et un effet de l'incubation sur la réponse initiale n'est pas contrecarré par l'exposition au nouveau contexte, contrairement à l'expérience précédente. Il semblerait donc bien que dans cette dernière, l'exposition répétée au contexte modifié ait permis d'observer une régulation des réponses de peur par deux mécanismes différents : l'un ayant trait aux aspects généraux de la tâche, l'autre impliquant le traitement des associations (inhibitrices) du contexte en présence.

Le premier renverrait, comme chez les animaux conditionnés au contexte en arrière-plan, à une réduction de la peur liée aux aspects généraux de la situation, réduction indépendante du contexte d'exposition. C'est cette diminution de la réponse aux caractéristiques générales que nous avons utilisée ici pour mettre en évidence une discrimination. Cette réduction de la peur aux aspects généraux de l'expérience semble être le principal tenant, dans l'expérience présente, de l'expression d'une incubation chez les

animaux exposés au contexte de conditionnement. En effet, s'ils présentent une peur incubée lors du premier test à 28 jours, le fait d'avoir été exposé à un nouveau contexte amène à une réduction suffisante pour qu'un effet du délai ne soit plus décelable, lors d'une exposition au contexte de conditionnement.

Le second mécanisme consisterait en la mise en place d'un apprentissage inhibiteur entre le contexte modifié et le choc, absent de l'expérience présente, et amenant à une régulation plus marquée des niveaux de peur lors d'une seconde exposition à ce contexte modifié. Cette association inhibitrice, spécifique au contexte auquel les animaux ont été exposés, leur permettrait de réguler l'expression de réponses de peur généralisées. La mise en place d'une telle association inhibitrice constitue probablement la manière dont, suite à l'exposition répétée à un contexte inconnu précédant le test, Milanovic et ses collaborateurs (1998) ont pu mettre en évidence une capacité de discrimination préservée avec un protocole induisant une peur au contexte en avant-plan fortement généralisée. Cette exposition à un nouveau contexte n'a ainsi pas affecté chez eux la peur exprimée en réponse au contexte de conditionnement, mais uniquement la peur généralisée au contexte d'exposition. Or, nous noterons que ces auteurs ont utilisé le même contexte pour les expositions répétées et pour le test de discrimination. Aussi, il est probable que leur mise en évidence d'une discrimination soit moins liée à une réduction de l'anxiété liée aux expositions multiples qu'à la mise en place d'une association inhibitrice au nouveau contexte.

De plus, il est notable que chez les animaux conditionnés au contexte en avant-plan et testés au délai long, une augmentation des réponses de peur au cours de l'exposition au contexte modifié soit observée. En effet, ce résultat semble cohérent avec une interprétation de la peur tardive observée lorsqu'un délai long sépare la séance de conditionnement de la séance de test et marquée par les effets d'une incubation, comme liée à l'ambiguïté du contexte d'exposition. Les animaux ne disposant pas d'un apprentissage inhibiteur régulant l'expression des réponses de peur présentent en effet une réponse tardive au contexte modifié. Avec la mise en place d'une incubation, un contexte différent du contexte de conditionnement induirait une réponse de type anxieuse équivalente à celle évoquée par ce dernier : ainsi, l'incubation pourrait correspondre, pour part, à une modification dans la capacité des animaux à évaluer la dangerosité de contextes inconnus, perçus comme plus ambigus dans leur capacité à prédire l'arrivée d'un événement aversif avec le temps. Nos résultats montrant que l'incubation ne se manifeste pas dans le contexte de conditionnement lorsqu'une exposition

au nouveau contexte précède le test est également cohérent avec cette hypothèse : le contexte initial, lorsqu'il ne fait pas l'objet d'un apprentissage inhibiteur entrant en compétition avec l'association excitatrice initiale (comme dans l'expérience précédente), présente un niveau d'ambiguïté relativement bas.

### 5. *Conclusions*

En utilisant une exposition à un contexte différent du contexte de conditionnement, nous avons pu démontrer la spécificité contextuelle d'apprentissages inhibiteurs permettant la régulation des réponses de peur, et donc l'existence de traitements de l'information contextuelle discriminants à 28 jours. Ceci suggère qu'une représentation précise du contexte de conditionnement soit toujours disponible en mémoire à ce délai.

Nous avons aussi montré que si l'effet de l'exposition aux aspects généraux de la tâche semble distinguable d'une anxiété liée à l'ambiguïté des informations contextuelles, cette dernière semble apparaître comme une caractéristique propre aux animaux conditionnés au contexte en avant-plan (Figure 4). En effet, dans ces groupes, il semblerait que la seule manipulation permettant de réduire l'expression d'une réponse de peur à un contexte complètement inconnu consiste en l'exposition au contexte initial (expérience précédente), suggérant que l'expression d'une peur tardive implique la représentation (et les associations) de ce contexte. Les animaux conditionnés au contexte en arrière-plan quant à eux présentaient une augmentation des réponses de peur au second bloc dans ce nouveau contexte, indépendamment de leur expérience passée. Ceci laisse à penser que la généralisation chez ces derniers groupes soit plus directement attribuable à l'effet des caractéristiques générales des séances d'exposition (amenant à des niveaux plus bas lors d'une seconde exposition quel que soit les contextes) et moins influencée par les associations du contexte de conditionnement, ce que l'expérience présente tend également à démontrer. En effet, nous pouvons observer que les effets de l'exposition à un nouveau contexte a des effets moins clairement dissociables d'une pré-exposition au contexte modifié lors d'une seconde exposition à ce dernier : dans les deux cas, les réponses de peur basses ne semblent pas augmenter au cours de la séance, l'exposition à un autre contexte suffisant de plus à ce qu'il n'y ait plus de manifestation de l'incubation dans le contexte modifié. Ceci suggère que la

présence ou l'absence d'une association inhibitrice influence moins les réponses tardives des animaux exposés à un contexte différent du contexte initial que celles des groupes conditionnés au contexte en avant-plan, à un délai où une incubation peut être observée. Cependant, on ne peut exclure que l'absence d'émergence d'une peur tardive chez les animaux conditionnés au contexte en arrière-plan ne soit liée à un effet plancher dans le contexte modifié, dans cette expérience : ces animaux présentant lors de la seconde séance d'exposition des niveaux de peur initiaux très bas, il est possible qu'une réponse plus progressive de type anxieuse ne soit pas perceptible car ne se sommant pas à un niveau de base suffisamment conséquent.

C'est pourquoi nous avons cherché à étudier plus avant des modifications dans la réponse d'anxiété des animaux en lien avec le traitement d'informations contextuelles. En effet, nous avons cherché à tester si l'émergence de réponses de peur tardives accompagnant l'incubation devait être liée à un traitement de l'évaluation du risque prédit par le contexte uniquement chez les animaux conditionnés au contexte en avant-plan, les animaux conditionnés au contexte en arrière-plan présentant une peur liée principalement aux aspects plus généraux des séances d'exposition. Si tel devait être le cas, une anxiété exacerbée devrait être exprimée spécifiquement chez les animaux conditionnés au contexte en avant-plan à délai long, dans un test mesurant l'anxiété liée à un environnement inconnu et potentiellement menaçant, se différenciant nettement par sa procédure expérimentale de l'exposition à une boîte de conditionnement. Aussi, cette hypothèse nous a amené à évaluer cette anxiété par exposition des animaux à un labyrinthe en croix surélevé.

## EXPERIENCE 3

### 1. *Introduction*

Un ensemble de données de la littérature suggère que les modifications comportementales consécutives à l'administration de chocs électriques se manifestent par une anxiété exacerbée dans des tests tels que le labyrinthe en croix surélevé. Ce test, consistant en un période d'exploration libre d'un labyrinthe en croix dont deux branches sont « ouvertes » (dépourvues de parois) et deux fermées, repose sur les tendances antagonistes des rats à explorer les environnements inconnus et à craindre les espaces ouverts (Montgomery, 1955). Si son utilisation en tant que test d'une anxiété liée à des stimuli non-conditionnés est très largement acceptée, l'administration de chocs électriques auxquels l'animal ne peut pas se soustraire (par opposition à des chocs dont il peut s'échapper), à même d'induire un conditionnement, a été démontrée comme potentialisant, dans certaines conditions, les comportements anxieux qu'il évalue. Lorsque ce test suit directement l'expression d'une peur conditionnée au contexte dans lequel ces chocs ont été administrés, les animaux semblent en effet présenter une anxiété exacerbée (Korte & De Boer, 2003). Cependant, un tel effet des chocs électriques sur les manifestations anxieuses a été proposé, dans une version et un protocole modifié de ce test, comme apparaissant sur des réponses d'évitement (réponse passive de non-confrontation à une situation dangereuse, classiquement évaluées par ce test) quel que soit le degré de contrôlabilité du choc (possibilité d'échappement lors de la séance d'administration), tandis que des chocs incontrôlables semblent induire spécifiquement un déficit dans la mise en place de réponses d'échappement (réponse active de fuite de cette situation ; de Paula Soares et al., 2011). Ceci pourrait suggérer qu'une expérience aversive entraînerait en soi une augmentation des comportements d'évitement, indépendamment des conditions dans lesquelles elle est imposée aux animaux. Néanmoins, certains auteurs ont proposé que, chez la Souris, ces manifestations anxieuses soient tributaires de la mise en place d'une peur conditionnée au contexte (Radulovic et al., 1998 ; Daviu et al., 2010). En effet, des chocs immédiats (incontrôlables et imprédictibles) n'induisent pas de modification comportementale majeure dans ce test, contrairement à des chocs prédit par le contexte

(intervalle de 3 min entre l'exposition au contexte et l'administration du choc). Si la mise en place d'une peur au contexte semble un pré-requis à la mise en évidence de modifications comportementales, par l'administration de chocs dans ce test (au moins jusqu'à 6 jours, Daviu et al., 2010), nous noterons qu'aucune étude ne s'est intéressée jusque là aux effets d'un conditionnement au contexte en arrière-plan.

Si des effets des chocs électriques ont été révélés dans ce test, ceux-ci ont été notamment attribués à une réduction de l'activité lors de la passation (Daviu et al., 2010). Un tel effet des chocs sur l'activité locomotrice a directement été révélé de manière consistante chez des animaux ayant reçu des chocs électriques dans un passé récent (Plaznik et al., 1988 ; Korte & De Boer, 2003). Or, une modification de l'activité locomotrice peut être comprise comme un facteur confondant dans l'analyse des comportements anxieux dans ce test, ce comportement pouvant être affecté par un ensemble de variables, telle que la sédation liée à un composé anxiolytique. La mesure classiquement employée pour mesurer les comportements anxieux dans ce labyrinthe, le ratio entre le temps passé dans des branches ouvertes et le temps d'exposition total (indicateur d'un évitement de ces branches) pourrait être biaisée par un effet locomoteur. Dans ce cadre, il est notable que dans les études précédemment citées et proposant que les manifestations anxieuses liées à l'administration de chocs électrique soient tributaires de la mise en place d'une peur conditionnée au contexte (Radulovic et al., 1998 ; Daviu et al., 2010), un effet sur le temps passé dans les branches ouvertes se soit manifesté par une préférence pour celles-ci, cet effet ayant été proposé comme révélant une aversion pour les endroits confinés présentant une certaine similitude avec le contexte de conditionnement.

Par ailleurs, plusieurs travaux suggèrent qu'une analyse éthologique des comportements exprimés par les rongeurs permette une évaluation plus valide des réponses anxieuses exprimées par les animaux. Notamment, un comportement d'*évaluation du risque*, consistant en une position d'étirement d'un animal situé dans une branche fermée vers une branche ouverte (et ne correspondant pas à une entrée dans cette branche), a été proposé comme un comportement typique d'exploration d'un contexte potentiellement dangereux. Ce comportement a en effet été directement lié à l'anxiété, ayant été proposé comme reflétant la recherche d'informations dans une situation où une menace est détectée comme potentielle mais suffisamment distante pour ne pas provoquer de cessation de l'activité, pour permettre la

mise en place d'une réponse comportementale adaptée (Blanchard et al., 1993 ; Blanchard et al., 2001 ; Blanchard et al., 2011). Aussi, il a été proposé comme une mesure complémentaire de premier plan dans ce type de tests, au même titre qu'un comportement de *balayage*, consistant en une exploration non-anxieuse de l'environnement en dehors du labyrinthe se manifestant par des mouvements de la tête de l'animal par delà les « parois » des branches ouvertes. C'est pourquoi un ensemble de variables complémentaires ont été proposées comme utiles à l'évaluation de l'anxiété des animaux, permettant notamment de s'affranchir de biais liés à un niveau d'activité locomotrice modifié par des conditions expérimentales risquant de parasiter les mesures portant sur les branches ouvertes (Cruz et al., 1994 ; Rodgers & Dalvi, 1997 ; Weiss et al. 1998 ; Carobrez & Bertoglio, 2005).

De manière récurrente, des analyses exploratoires multivariées (parmi lesquelles figure l'analyse factorielle) ont été conduites pour dégager des structures théoriques sous-jacentes à ces ensembles de variables comportementales. Notamment, une dissociation entre des facteurs se rapprochant de comportements liés à l'anxiété et des facteurs plus corrélés aux comportements locomoteurs / d'exploration a été proposée comme un moyen efficace de s'affranchir d'un biais lié à l'activité locomotrice, via le calcul des scores factoriels correspondants (Kanari et al., 2005). Néanmoins, il a été proposé qu'une telle analyse multivariée, si elle devait bénéficier de l'inclusion de variables éthologiquement valides, devrait faire preuve de parcimonie dans le nombre de variables incluses à l'analyse : des variables redondantes et en nombre excessif risqueraient d'amener à des solutions difficilement interprétables (si ce n'est soutenables d'un point de vue théorique) du fait d'un trop grand nombre de facteurs détectés (Wall & Messier, 2001).

Nous avons donc, dans cette étude visant à déterminer un effet à court et à long terme spécifique du type de conditionnement sur l'appréhension de contextes potentiellement menaçants telle qu'évaluée par le labyrinthe en croix surélevé, utilisé une analyse factorielle pour tenter d'affranchir notre évaluation de l'anxiété d'un effet potentiellement parasite d'une hypoactivité, celle-ci pouvant en effet être liée à des mécanismes différents de ceux impliqués dans le traitement du risque présenté par la situation. Ce faisant, nous avons inclus à notre analyse un ensemble de comportements évoquant d'un point de vue éthologique plus directement l'évaluation de ce risque et ses conséquences comportementales, permettant une

attribution plus légitime d'un construit théorique aux facteurs mis en évidence, tout en réduisant au minimum les variables présentant un haut degré de redondance. Nous avons également vérifié que l'exposition à un dispositif très différent de celui utilisé pour évaluer la peur au contexte, n'empêchait pas l'expression d'une peur généralisée au contexte à délai long. En effet, un dispositif expérimental très différent des séances de test de la peur au contexte devrait ne pas avoir d'effet sur la peur à un contexte modifié si la généralisation de la peur devait (au moins pour part) s'appuyer sur une représentation schématique de ces séances. Pour ce faire, la peur au contexte modifié est évaluée le lendemain de l'exposition des animaux au labyrinthe en croix surélevé.

## 2. *Matériel et Méthodes*

### ◦ *Sujets*

Un total de 59 rats mâles Long Evans ( $308 \pm 2$  g) provenant du centre d'élevage R. Janvier (France) et hébergés dans les mêmes conditions que dans l'expérience précédente est utilisé pour cette expérience.

### ◦ *Matériels*

Les boîtes de conditionnement ainsi que la boîte utilisée pour le test au contexte modifié sont les mêmes que dans les expériences précédentes, c'est pourquoi elles ne seront pas détaillées ici.

Le labyrinthe en croix surélevé, fait en Plexiglas noir, consiste en deux branches opposées ouvertes (50 cm de long x 10 cm de large x 1,5 cm de hauteur) et de deux branches opposées fermées (50 cm de long x 10 cm de large x 40 cm de hauteur), reliées à une zone centrale (10 x 10 cm) en formant une croix. Le labyrinthe est surélevé de 73 cm par rapport au sol, et est éclairé par quatre lampes halogènes disposées aux quatre coins de la salle d'expérience, offrant un éclairage équivalent de chacune des branches ouvertes (5 lux) et de chacune des branches fermées (2,5 lux). Une caméra fixée 200 cm au-dessus du labyrinthe et connectée à un magnétoscope, permet l'enregistrement des séances ainsi que l'observation expérimentale par le biais d'un moniteur présent derrière une cloison. Ce dispositif permet un codage en direct des déplacements des animaux, à l'aide d'un ordinateur situé lui aussi derrière cette cloison.

### 2.1. *Procédures*

La figure 1 résume le protocole expérimental mis en place dans cette expérience. La procédure de manipulation des animaux avant expérimentation est identique à celle employée dans les expériences précédentes (manipulation quotidienne avant conditionnement, ainsi qu'à 7 et 21 jours pour les animaux testés à 28 jours).

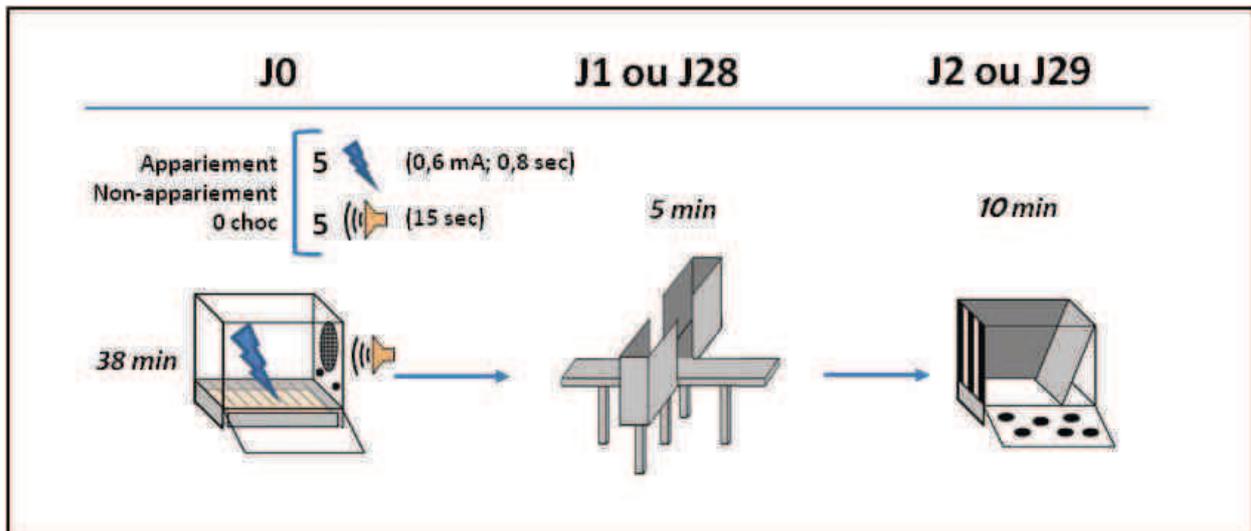


Figure 1 : Représentation schématique du protocole expérimental.

◦ *Conditionnement*

Les animaux sont conditionnés soit par un protocole d'appariement, soit par un protocole de non-appariement d'un son (15 s, 4kHz, 10dB au-dessus du bruit de fond ; 5 présentations) et d'un choc (0,8 s ; 0,6 mA). Les agencements temporels entre ces stimuli dans l'une ou l'autre condition sont identiques à ceux employés dans les expériences précédentes (appariement = PA ; non-appariement = UP). Un groupe témoin non-conditionné (évaluation de l'anxiété de base évoquée par le labyrinthe en croix surélevé) est exposé au contexte de conditionnement et aux sons pour la même durée, selon un agencement temporel correspondant pour moitié à l'un ou l'autre des protocoles. Aucun choc électrique n'est administré à ces témoins.

◦ *Labyrinthe en croix surélevé*

Les rats sont transportés dans leurs cages d'élevage, placée sur un chariot, de l'animalerie à une pièce adjacente à la salle d'expérimentation, une heure avant le test effectué 24 heures ou 28 jours après le conditionnement. Un total de 16 rats est testé par jour, dans un ordre contre-balancé entre les conditions expérimentales. Avant le début du test, chaque rat, testé individuellement, est amené en salle d'expérimentation dans une cage de transport (cage d'élevage vide, dépourvue de sciure et d'accès à l'eau et à la nourriture) et y est

laissé pour une période d'acclimatation à cette salle d'une durée de cinq minutes. Le rat est ensuite posé au centre du dispositif, face à la branche fermée opposée au dispositif d'acquisition. Chaque passage dans une branche (incluant le franchissement de ses limites par les quatre pattes de l'animal) est codé en direct pour une durée de cinq minutes par l'expérimentateur, qui n'a pas connaissance du groupe expérimental de chaque animal, à l'aide d'un logiciel développé localement (Cosquer E) et décomptant automatiquement le nombre de passages ainsi que le temps passé dans chacune des branches. A la fin de l'exposition de cinq minutes, le rat est replacé dans la cage de transport et ramené dans la salle adjacente. Entre deux rats consécutifs, la cage de transport est nettoyée à l'eau, et le dispositif expérimental est nettoyé à l'alcool à 70 %. Suite à la passation de l'ensemble des animaux testés le même jour, ils sont ramenés en animalerie.

Les enregistrements de la séance sont visionnés *a posteriori* par un expérimentateur aveugle aux conditions expérimentales de chaque animal. Un premier visionnage permet le codage en parallèle des comportements d'évaluation du risque (défini par une posture d'étirement, pattes arrières dans une branche fermée et tête en dehors de celle-ci) et de balayage (animal dans une branche ouverte, effectuant des mouvements de tête par delà les limites de cette branche). Un second visionnage permet le codage des latences de première sortie de la branche initiale et de première entrée dans une branche ouverte, permettant d'évaluer une réponse initiale à l'environnement de test marquée par une hypoactivité / absence d'exploration. Le temps passé aux extrémités (moitiés les plus excentrées) des branches ouvertes est également comptabilisé.

◦ *Test au contexte modifié*

Le lendemain du test en labyrinthe surélevé, les animaux sont exposés au contexte modifié pour une durée de 10 minutes, leur transport en salle d'expérimentation faisant l'objet des mêmes procédures que celles décrites dans l'expérience précédente. Les quatre animaux de deux cages d'élevages sont exposés simultanément.

## 2.2. Analyses statistiques

La séance de conditionnement est analysée en incluant les facteurs Protocole (appariement, non-appariement, non conditionné), Délai (24h, 28j) et le facteur de répétition Blocs (5 périodes de 2 min suivant l'administration de chacun des chocs). Une analyse factorielle est réalisée sur les données obtenues dans le labyrinthe en croix surélevé, incluant l'ensemble des animaux, pour pouvoir rendre compte, *via* le calcul de scores factoriels, des effets des conditions expérimentales sur l'expression de patrons cohérents de réponses comportementales. Cette analyse suit les mêmes étapes que celles décrites précédemment. Elle inclut les variables suivantes : le nombre total d'entrées dans deux branches (ouvertes + fermées), le pourcentage d'entrées dans les branches ouvertes (= ratio ouvertes / (ouvertes + fermées)), le pourcentage de temps passé dans les branches ouvertes (ratio identique), les latences de sortie de la branche initiale et d'entrée dans une branche ouvertes (en secondes), le temps passé en évaluation du risque (en secondes), le temps passé en balayage (en secondes) et le temps passé dans les extrémités des branches ouvertes (en secondes). Une extraction des facteurs est réalisée par la méthode des composantes principales, le nombre de facteurs retenus étant défini par le critère de Kaiser (valeurs propres > 1). Une rotation varimax est appliquée à la structure factorielle, la matrice des résidus est calculée pour permettre une comparaison à la matrice des corrélations observées, et les communautés des variables sont évaluées. Les scores factoriels sur chaque facteur sont calculés pour chaque sujet, et les effets des facteurs Protocole (appariement, non-appariement ou non-conditionnement) et Délai (24 heures ou 28 jours) sont analysés par une ANOVA à deux facteurs, pour chacun des facteurs issus de l'analyse factorielle. La séance d'exposition au contexte modifiée est analysée, pour chacun des groupes, avec une ANOVA incluant le facteur Délai (24 h, 28 j) pour la première minute et les facteurs Délai et Bloc (trois blocs de trois minutes) pour le reste de la séance.

### 3. Résultats

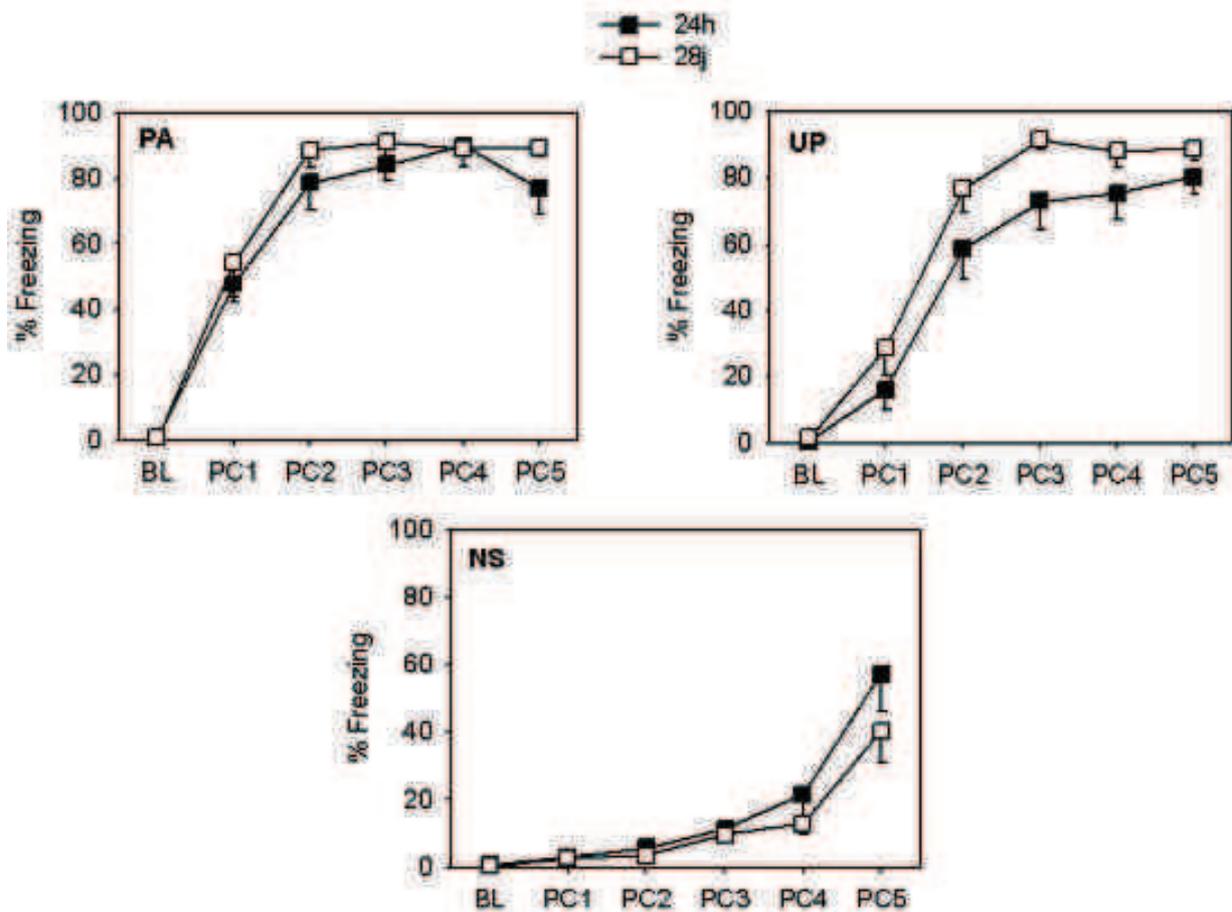
Les effectifs de chacun des groupes inclus aux analyses sont détaillés dans le tableau 1.

	24 heures	28 jours
Protocole d'appariement	9	10
Protocole de non-appariement	11	9
Non-conditionnés	10	10

**Tableau 1** : Effectifs de chacun des groupes inclus à l'analyse (N = 59)

#### 3.1. *Conditionnement*

La figure 2 représente les pourcentages de *freezing* présentés par chacun des groupes expérimentaux suite à l'administration des chocs électriques au moment de la séance de conditionnement. Y figure également le niveau de peur de chacun des groupes durant la période précédant la délivrance du premier choc (*baseline*).



**Figure 2 :** Pourcentages moyens de freezing (- erreurs-types) des groupes suite à l'administration des différents chocs électriques. Abréviations : PA = protocole d'appariement ; UP = protocole de non-appariement ; NS = animaux non-conditionnés ; BL = baseline ; PC = post-choc ; 24h = test à 24 heures ; 28j = test à 28 jours.

L'observation de ces figures suggère des réponses comportementales homogènes entre les délais des animaux exposés à chaque protocole expérimental. Cependant, une réduction au dernier choc chez les animaux conditionnés avec un protocole d'appariement ne semble pas apparaître dans cette expérience. L'ANOVA effectuée sur les réponses post-choc des animaux conditionnés indique un effet du facteur Protocole ( $F_{1,35} = 4,8$  ;  $p < 0,05$ ), du facteur Délai ( $F_{1,35} = 5$  ;  $p < 0,05$ ) et du facteur de répétition ( $F_{4,140} = 48$  ;  $p < 0,001$ ), mais pas d'interaction entre ces facteurs ( $F_{\max} = 2,2$ , interaction Protocole x Bloc à  $p = 0,07$ ). L'analyse post-hoc indique, en effet, que quel que soit le groupe conditionné, les animaux présentent un plateau dans leurs réponses de peur déjà atteint au troisième choc (effets du bloc à  $p < 0,05$  entre les premiers et deuxièmes chocs, puis  $p > 0,05$ ).

Les animaux non-conditionnés présentent une augmentation linéaire de l'inactivité au cours de la séance de 38 minutes, ce qui se manifeste ici par une augmentation des scores de « *freezing* ».

### *3.2.Labyrinthe en croix surélevé : données brutes*

Le tableau 1 indique les données obtenues pour chacune des variables comportementales évaluées. Sont indiquées en rouges les différences significatives révélées par comparaisons planifiées au groupe témoin non-conditionné testé au même délai (orange :  $p < 0,1$ ). Nous noterons qu'au cours de ces tests, aucune expression comportementale de type *freezing* n'a été observée.

	NS 24 heures	NS 28 jours	PA 24 heures	PA 28 jours	UP 24 heures	UP 28 jours
total d'entrées br. Ouvertes + fermées	15,50 ± 1,63	11,90 ± 1,13	<b>10,56 ± 1,16</b>	10,40 ± 1,19	13,82 ± 1,39	11,56 ± 1,50
% entrées dans les br. ouvertes	27,55 ± 5,37	16,24 ± 4,72	<b>12,19 ± 4,00</b>	16,68 ± 4,84	19,41 ± 4,46	<b>30,06 ± 5,23</b>
% temps dans les br. ouvertes	17,69 ± 3,50	10,76 ± 3,29	<b>5,47 ± 2,04</b>	9,18 ± 3,38	10,72 ± 3,26	17,37 ± 4,96
latence sortie branche Nord	18,26 ± 7,04	17,07 ± 4,88	21,65 ± 6,78	<b>39,22 ± 15,28</b>	12,53 ± 1,34	24,54 ± 5,11
latence entrée branche ouverte	99,35 ± 39,40	153,59 ± 38,24	142,89 ± 40,66	134,64 ± 42,27	76,33 ± 28,69	109,58 ± 37,22
Temps passé en balayage	23,03 ± 4,61	15,16 ± 3,59	<b>12,00 ± 3,18</b>	11,97 ± 3,31	19,79 ± 5,23	19,80 ± 5,02
Temps passé en évaluation du risque	35,91 ± 4,14	39,54 ± 4,91	48,26 ± 4,86	44,32 ± 3,37	<b>52,30 ± 4,63</b>	<b>26,02 ± 3,69</b>
Temps aux extrémités des br. ouvertes	11,27 ± 3,28	8,39 ± 2,99	5,07 ± 3,33	3,26 ± 1,57	8,84 ± 3,47	14,09 ± 4,53

**Tableau 1** : Valeurs moyennes (± erreurs-types) obtenues pour chacune des variables incluses à l'analyse factorielle (NS = non-conditionnés, PA = protocole apparié, UP = protocole non apparié ; 24 h = test à 24 heures ; 28 jours = test à 28 jours).

Les valeurs en rouge indiquent une valeur significativement différente du groupe non-conditionné au même délai ( $p < 0,05$ ) et la valeur orange une différence quasi-significative ( $p = 0,08$ )

L'observation de ce tableau suggère, en premier lieu, une augmentation des comportements de type anxieux chez les animaux non-conditionnés avec le temps. Celle-ci semble surtout se manifester sur les variables classiques dans l'évaluation de l'activité locomotrice et du conflit anxiété / exploration dans ce dispositif (nombres et pourcentages liés aux branches ouvertes / fermées) ainsi que sur le balayage de la salle environnante (exploration non-anxieuse).

Les comparaisons à ces groupes témoins indiquent des scores plus bas sur ces mêmes variables chez les animaux conditionnés avec un protocole d'appariement testés à délai court (tous les  $p < 0,05$  sauf le balayage à  $p = 0,08$ ). Lors du test à 28 jours, ces animaux présentent

un patron comportemental globalement équivalent à celui des témoins, bien qu'ils ne semblent pas différer nettement du groupe conditionné avec le même protocole et testé à 24 heures. La seule différence aux témoins mise en évidence porte sur une latence deux fois plus longue à quitter la branche de départ ( $p < 0,05$ ).

Les animaux conditionnés avec un protocole de non-appariement présentent des niveaux intermédiaires, à 24 heures, sur ces variables, marquant un différentiel entre les témoins et les animaux conditionnés avec un protocole d'appariement. Néanmoins, à ce délai, ils présentent un comportement d'évaluation du risque plus marqué que les témoins ( $p < 0,05$ ). A délai long, on observe des modifications comportementales en sens inverse à celles observées chez les témoins. Leur propension à visiter les branches ouvertes et le temps y étant passé (y compris aux extrémités) semble augmenter, tandis qu'ils passent moins de temps à évaluer le risque présenté par l'environnement. Néanmoins, leur exploration non-anxieuse de l'environnement distal (balayage) apparaît stable, et leurs latences à quitter la branche initiale et à pénétrer une branche ouverte semble légèrement augmenter.

### *3.3.Labyrinthe en croix surélevé : modélisation par analyse factorielle*

Une solution à deux facteurs est apparue comme la solution la plus adaptée à l'analyse factorielle de l'ensemble des données, comme le montre le tableau 2. Un tel modèle permet de rendre compte de plus de trois quart de la variance observée dans les données comportementales (76,11 %).

	valeur propre	% variance	valeurs propres cumulées	% variance cumulée
Facteur 1	5,04	62,95	5,04	62,95
Facteur 2	1,05	13,16	6,09	76,12

**Tableau 2** : Valeur propre associée à chacun des facteurs retenus pour l'analyse factorielle et pourcentage supplémentaire de variance des données expliqué par l'ajout de chacun de ces facteurs

Les deux facteurs extraits se rapportent à des comportements généralement exprimés de manière cohérente au cours de la séance d'exposition. De manière intéressante, l'analyse regroupe, sur le premier facteur, un ensemble de variables proposées comme des révélateurs potentiels d'un haut niveau de conflit entre exploration et anxiété : les pourcentages de temps passé et d'entrées dans les branches ouvertes, le temps passé aux extrémités de celles-ci, l'exploration non-anxieuse et l'évaluation du risque, qui apparaît évoluer en sens inverse aux autres facteurs (signe négatif). Le second facteur semble quand à lui rassembler des variables plus sensibles à une hypoactivité des animaux, rassemblant le nombre total d'entrées, proportionnellement inverse aux latences de sortie de la première branche et de première entrée dans une branche ouverte. Cependant, nous noterons que ces facteurs ne sont que partiellement orthogonaux : certaines variables semblent être représentées de manière non-négligeable par les deux facteurs (poids  $> 0,4$ ). Ceci suggère que les variations observées sur ces variables puissent être liées à des processus sous-jacents plus hétérogènes : le nombre total d'entrées ainsi que la latence d'entrée dans une branche ouverte semblent contribuer au facteur 1, tandis que les pourcentages de temps et d'entrées dans les branches ouvertes ainsi que le balayage apparaissent également liés au second facteur.

Les tableaux 3 et 4 représentent la matrice de corrélation observée, calculée sur la base des données brutes, ainsi que la matrice des résidus, qui correspond à la différence entre les corrélations observées et celles reproduites par un modèle à deux facteur. Y sont figurés les corrélations non-significatives (cases violettes) ainsi que les résidus les plus importants (cases oranges), représentant une sous-estimation ( $> 0,1$ ) ou une surestimation ( $< -0,1$ ) des corrélations observées par le modèle.

	total passages branches	% passages ouvertes	% temps ouvertes	latence sortie branche Nord	latence entrée branche ouverte	Balayage	Evaluation du risque	Tps extrémités ouvertes
total passages branches	1,00							
% passages ouvertes	0,67	1,00						
% temps ouvertes	0,72	0,92	1,00					
latence sortie branche Nord	-0,35	-0,27	-0,26	1,00				
latence entrée branche ouverte	-0,68	-0,71	-0,63	0,33	1,00			
Balayage	0,68	0,85	0,89	-0,27	-0,61	1,00		
Evaluation du risque	-0,24	-0,53	-0,56	0,12	0,20	-0,48	1,00	
Tps extrémités ouvertes	0,64	0,83	0,85	-0,24	-0,51	0,81	-0,52	1,00

	total passages branches	% passages ouvertes	% temps ouvertes	latence sortie branche Nord	latence entrée branche ouverte	Balayage	Evaluation du risque	Tps extrémités ouvertes
total passages branches	0,25							
% passages ouvertes	-0,05	0,1						
% temps ouvertes	0	0,02	0,08					
latence sortie branche Nord	0,17	0,05	0,04	0,5				
latence entrée branche ouverte	0,03	-0,04	0,02	-0,21	0,28			
Balayage	-0,04	-0,03	0	0	0,06	0,18		
Evaluation du risque	0,03	0,05	0,06	0,27	0	0,09	0,32	
Tps extrémités ouvertes	-0,03	-0,03	-0,02	-0,04	0,09	0	0,09	0,2

**Tableaux 3 et 4 :** Matrice de corrélation des données brutes et matrice des résidus du modèle à deux facteurs (différence entre les corrélations observées et les corrélations prédites par le modèle). Les résidus importants (de valeur absolue > 0,10) sont indiqués en orange : une valeur positive indique une sous-estimation de la corrélation observée, et une valeur positive une surestimation. Les cases violettes indiquent des corrélations observées non-significatives.

La matrice des corrélations observées indique que l'évaluation du risque n'est pas corrélée aux trois principales variables du second facteur. De plus, la latence de sortie de la branche initiale semble ne pas être corrélée avec le temps passé dans les branches ouvertes (% total et temps aux extrémités).

Sur l'ensemble des corrélations prédites par le modèle, seules trois semblent faire l'objet d'une mésestimation. Elles concernent toutes la latence de sortie de la branche initiale, qui apparaît sous-estimée dans les liens qu'elle présente avec la latence de la première entrée dans une branche ouverte, et surestimée dans sa corrélation avec le nombre total d'entrées et l'évaluation du risque. Cette dernière corrélation ne ramenant pas à un même facteur, sa surestimation porte moins à conséquence.

Le tableau 5 représente les communautés des variables dans le modèle à deux facteurs. Un tel modèle semble ici encore apte à rendre compte d'une large proportion de la variance observée dans chacune des variables expérimentales (plus de 70 % globalement), bien qu'ici encore la latence de sortie de la branche initiale semble un indicateur mal représenté par le modèle ( $R^2 = 0,5$ ).

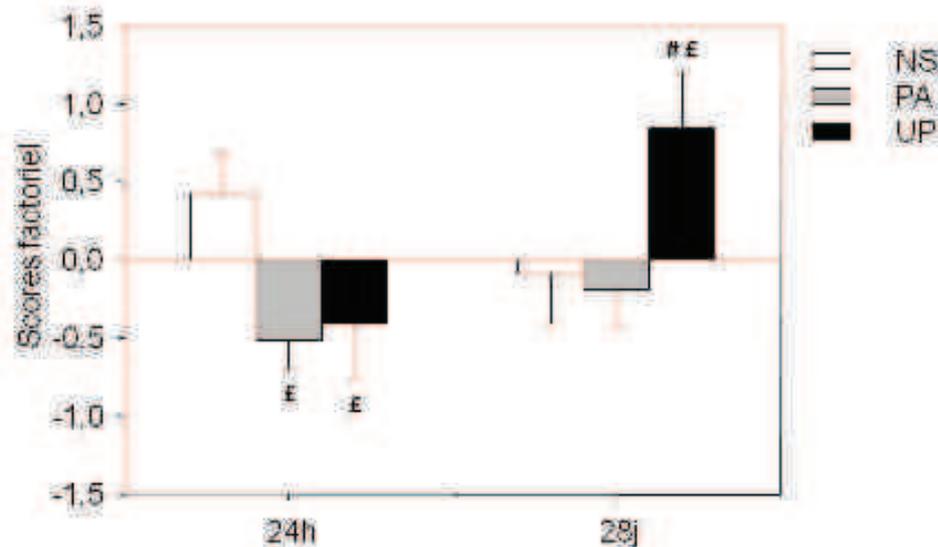
### *3.4. Analyse des scores factoriels*

Les scores factoriels ont été dérivés par application aux scores standardisés (de chaque animal pour chaque variable observée) de coefficients de pondération, pour situer la position de chaque sujet sur les facteurs obtenus, et permettre ainsi la comparaison des groupes expérimentaux pour chacun des facteurs. Ces coefficients sont récapitulés dans le tableau 5.

Communauté	1 facteur	2 facteurs
total passages branches	0,23	0,75
% passages ouvertes	0,67	0,90
% temps ouvertes	0,73	0,92
latence sortie branche Nord	0,00	0,50
latence entrée branche ouverte	0,17	0,72
Balayage	0,65	0,82
Evaluation du risque	0,64	0,68
Tps extrémités ouvertes	0,70	0,80

**Tableau 5** : Coefficients des scores factoriels. Le calcul du score factoriel de chaque animal pour chaque facteur correspond à la somme des scores standardisés de chaque animal sur chaque variable pondérés par ces coefficients. Ces pondérations sont de signe et d'intensité assimilables (mais pas identiques) aux poids factoriels des variables sur chacun des facteurs.

La figure 3 montre les moyennes (+ ou - erreurs-types) des scores factoriels obtenus pour les animaux des différents groupes expérimentaux sur le premier facteur (comportements liés au conflit exploration / anxiété). Un score négatif est signe de comportements plus révélateurs d'une anxiété.

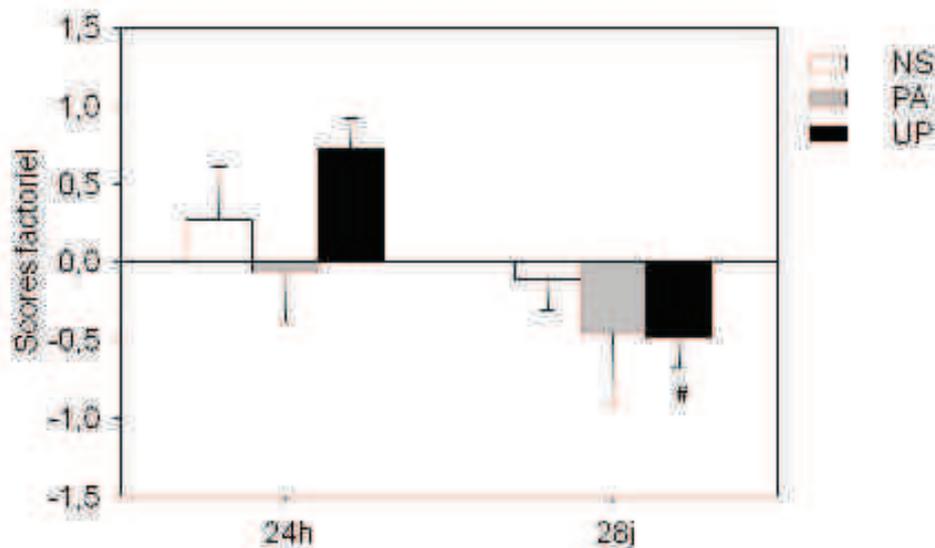


**Figure 3** : Scores factoriels moyens (+ ou - erreurs-types) des groupes expérimentaux sur le Facteur 1 (comportements liés au conflit exploration / anxiété).

Abréviations : PA = animaux conditionnés au contexte en arrière-plan ; UP = animaux conditionnés au contexte en avant-plan ; NS = animaux non-conditionnés ; 24h = test à 24 heures ; 28j = test à 28 jours. Statistiques : # = différent du même groupe au délai de 24h ; £ = différent des témoins non-conditionnés au même délai.

Cette figure semble indiquer qu'à délai court, les animaux conditionnés présentent des comportements de type anxieux plus élevés que les animaux non-conditionnés. A délai long, seuls les animaux conditionnés avec un protocole de non-appariement semblent présenter un niveau différent des témoins. Leur patron comportemental semble radicalement opposé à celui observé à délai court. Ces observations sont confirmées par l'ANOVA, qui indique un effet d'interaction entre les facteurs Protocole et Délai ( $F_{2,53} = 4,5$  ;  $p < 0,05$ . Autres  $F_{\max} = 2,2$  ;  $p > 0,1$ ). Les comparaisons post-hoc confirment une différence au groupe témoin à 24 heures dans les deux groupes conditionnés ( $p < 0,05$ ), tandis qu'à 28 jours seul le groupe conditionné avec un protocole de non-appariement présente un niveau différent de ces témoins ( $p < 0,05$ ). Ce groupe est par ailleurs le seul à présenter une différence liée au délai ( $p < 0,01$ ).

La figure 4 représente les moyennes (+ ou - erreurs-types) des scores factoriels obtenus dans les différents groupes expérimentaux sur le second facteur (un score positif est révélateur de comportements marqués par l'activité des animaux).

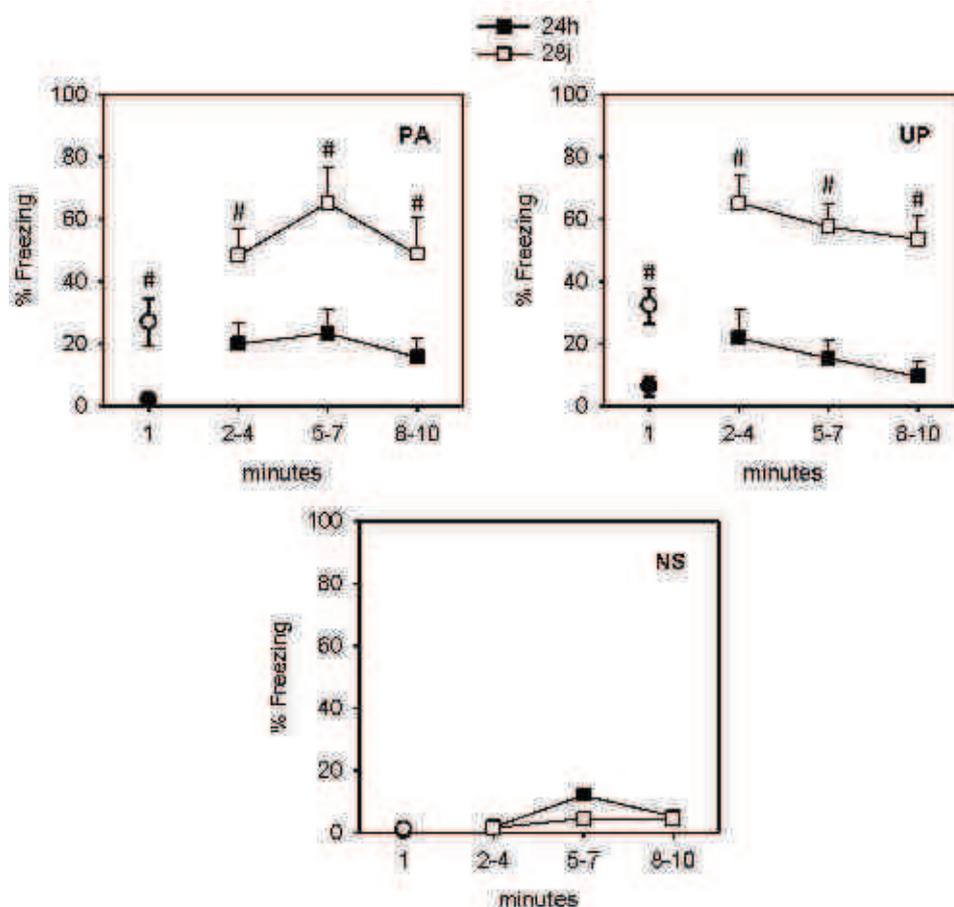


**Figure 4** : Scores factoriels moyens (+ ou - erreurs-types) des groupes expérimentaux sur le Facteur 2 (comportements marqués par l'activité des animaux).  
 Abréviations : PA = animaux conditionnés au contexte en arrière-plan ; UP = animaux conditionnés au contexte en avant-plan ; NS = animaux non-conditionnés ;  
 24h = test à 24 heures ; 28j = test à 28 jours. Statistiques : # = différent du même groupe au délai de 24h.

Cette figure suggère que le groupe conditionné avec un protocole de non-appariement soit le seul à présenter une diminution du niveau d'activité avec le délai, présentant à 28 jours des scores plus bas qu'à 24 heures. L'ANOVA confirme un seul effet du facteur Délai ( $F_{1,53} = 4,5$   $p < 0,05$  ; autres  $F_{max} = 1,2$ ), attribué par les comparaisons planifiées au seul groupe UP ( $p < 0,01$ ).

### 3.5. Test de la peur au contexte modifié

La figure 5 représente les scores de *freezing* des différents groupes expérimentaux lors de l'exposition au contexte modifié.



**Figure 5** : Pourcentages moyens de *freezing* (+ erreurs-types) des groupes conditionnés avec un protocole d'appariement (PA) ou de non-appariement (UP) et du groupe témoin non-choqué (NS) pendant la séance d'exposition au contexte modifié. Abréviations : 24h = premier test à 24 heures ; 28j = premier test à 28 jours. Statistiques : # = différent du délai de 24h à la même période ; tous les  $p < 0,05$ .

Cette figure suggère des niveaux de peur plus importants à un délai de 28 jours, quel que soit le protocole de conditionnement utilisé et la période d'expression des réponses de peur étudiée. Dans les groupes conditionnés, L'ANOVA indique des effets significatifs du facteur Délai à la fois sur la première minute d'exposition (PA :  $F_{1,17} = 10,5$  ;  $p < 0,01$ . UP :  $F_{1,18} = 14,4$  ;  $p < 0,01$ ) et sur le reste de la période de test (PA :  $F_{1,17} = 10$  ;  $p < 0,01$ . UP :  $F_{1,17} = 29,5$   $p < 0,001$ ). Concernant cette dernière, ni un effet du Bloc ni une interaction de ce facteur avec le délai ne sont mis en évidence (PA :  $F_{\max} = 1,3$ . UP :  $F_{\max} = 1,4$ ). Les tests *post-hoc* confirment que l'effet du délai est significatif pour chacun des blocs (PA :  $p_{\max} < 0,05$ . UP :  $p_{\max} < 0,001$ ). Dans le groupe témoin non-choqué, l'immobilité est très faible mais un effet global du facteur Bloc est observé ( $F_{2,36} = 4,73$  ;  $p < 0,05$ , min 2-4 vs min 8-10,  $p < 0,05$ ).

#### 4. *Discussion*

Si l'analyse des données brutes des variables évaluées au cours de ce test n'ont pas fait l'objet de différences importantes par rapport aux témoins, l'utilisation d'une analyse factorielle nous a néanmoins permis de nous affranchir de certains biais liés à la surdétermination de certains de ces comportements. L'utilité de ce type d'analyse dans l'interprétation des comportements exprimés dans ce test, marqués par une forte variabilité, a précédemment été évoquée (Kanari et al., 2005). Ce faisant, elle nous a permis de dégager deux facteurs semblant se rapporter à deux processus sous-jacents différents : un premier facteur contrastant les variables classiquement utilisées pour évaluer l'anxiété avec l'exploration non-anxieuse (balayage de l'environnement) et le comportement d'évaluation du risque, et un second englobant une variable généralement utilisée pour évaluer l'activité locomotrice globale des animaux (nombre d'entrées) ainsi que les latences des animaux à quitter la branche fermée dans laquelle ils se trouvent au début du test et à explorer une branche ouverte. Une telle dissociation suggère que le premier facteur se rapporte plus particulièrement à l'antagonisme entre anxiété et exploration, tandis que le second viendrait marquer un niveau d'activité globalement plus soutenu. Le fait que certaines variables mesurées présentent des poids factoriels non négligeables sur les deux facteurs semble appuyer l'idée que certains des comportements mesurés puissent être surdéterminés, se rapportant à la fois à une réaction anxieuse et à un niveau général d'activité plus ou moins élevé. Ainsi, il est concevable d'une part que l'exploration de la partie la plus ouverte du dispositif (en temps passé dans les branches ouvertes comme en balayage de la pièce expérimentale) soit plus marquée chez des animaux présentant un haut niveau d'activité, et d'autre part qu'une anxiété liée au contexte expérimental se manifeste par un évitement plus long de la première visite d'une branche ouverte et qu'elle induise une réduction du nombre total de passages (impliquant la traversée d'une zone centrale partiellement ouverte). Concernant ce dernier point, nous noterons que ces deux variables semblent celles les plus déterminantes dans le second facteur. En effet, la latence de sortie de la branche initiale semble la plus mal représentée par ce modèle. Il est donc possible que si ce second facteur se distingue bien du premier par un aspect locomoteur plus flagrant, il ne soit pas complètement

dissociable de l'anxiété mais vienne plutôt marquer une expression différente de celle-ci : le premier facteur serait plus en lien avec un traitement de l'information environnante (comme le suggère les poids factoriels du balayage et de l'évaluation du risque), tandis que le second marquerait une hypoactivité moins directement en lien avec ce traitement du risque représenté par le contexte.

Cette interprétation des scores factoriels nous permet de mettre en évidence des effets de nos conditions expérimentales ayant probablement été masqués du fait de double détermination des variables mesurées. En effet, nous observons sur le premier facteur des scores plus bas chez les animaux conditionnés que chez les animaux témoins. Ceci suggérerait que l'expérience récente d'un conditionnement amène à des modifications comportementales marquées par une anxiété exacerbée. Or, il est notable qu'à délai long, où une incubation est observable, seuls les animaux conditionnés au contexte en avant-plan présentent des niveaux de peur différant des témoins. Étonnamment, cette différence se manifeste par des scores factoriels plus importants : ceci suggère que ces animaux passent moins de temps à évaluer le risque représenté par cette situation expérimentale et plus de temps à explorer l'environnement. Néanmoins, une interprétation différente est suggérée par la littérature. En effet, un comportement d'évitement des branches fermées a déjà été rapporté suite au conditionnement à un contexte chez la Souris, et proposé comme révélateur du développement d'une aversion pour les endroits confinés (Radulovic et al., 1998 ; Daviu et al., 2010). Une telle interprétation est également suggérée par nos données, notamment par les scores obtenus sur le second facteur. En effet, ce groupe est le seul à présenter une réduction significative des niveaux d'activité entre les délais. Si comme nous le proposons précédemment, ce second facteur pouvait également être en lien avec une anxiété non liée à des efforts pour détecter une menace dans un environnement ambigu, ceci suggérerait qu'une anxiété exacerbée se manifeste bien chez ces animaux. En effet, l'exploration distante de l'environnement, se manifestant entre autres par le comportement stéréotypé d'évaluation du risque chez le rongeur, a été attribuée à la perception d'une menace potentielle perçue comme plus distante (ou ambiguë) qu'une menace engendrant une fuite lorsque celle-ci est possible (Blanchard et al., 2001 ; Blanchard et al., 2011). Il est donc envisageable que dans le groupe conditionné en avant-plan, la mise en place d'une incubation se manifeste par un biais dans l'évaluation faite de la dangerosité de nouveaux environnements. A délai court, tous les

animaux choqués percevraient un nouvel environnement comme plus menaçant que des témoins non-choqués et mettraient en place une stratégie d'exploration plus approfondie de cet environnement. A délai long par contre, un conditionnement au contexte en avant-plan amènerait à une réduction du seuil de basculement d'un tel comportement de collecte d'informations (visant à lever l'ambiguïté du contexte) vers un comportement suggérant l'évaluation effective d'une menace imminente par les animaux. Cette évaluation biaisée expliquerait l'augmentation des réponses marquées par l'évitement relatif des branches fermées.

Concernant la peur exprimée au lendemain de ce test dans le contexte modifié, on constate des niveaux de peur relativement bas à délai court, de manière cohérente avec nos expériences précédentes, tandis qu'à délai long, les réponses de peur importantes observées suggèrent la mise en place d'une incubation clairement détectable. Il semblerait donc, qu'à ce délai, l'exposition à des conditions expérimentales très différentes de celles liées à l'exposition aux boîtes de conditionnement n'amène pas à une diminution dans l'expression des réponses de peur comparable à celle observée suite à l'exposition à un nouveau contexte. Ce résultat, en permettant d'exclure qu'une réduction des réponses de peur entre deux tests soit uniquement liée à la seule manipulation expérimentale, vient appuyer notre hypothèse selon laquelle ce serait la peur en lien aux aspects généraux des séances d'exposition aux contextes qui seraient régulés par l'exposition à un contexte nouveau. Ainsi, il est probable que la réduction des niveaux de peur observée dans l'expérience précédente soit liée à une représentation en mémoire des éléments généraux associés à l'exposition aux contextes. Ce serait donc bien cette représentation qui ferait l'objet d'un apprentissage inhibiteur, lors d'une première exposition à un contexte après le conditionnement, permettant de réduire les effets d'une incubation dans le groupe conditionné au contexte en avant-plan comme dans celui conditionné au contexte en arrière-plan.

### 5. *Conclusions*

Les changements comportementaux observés dans un test permettant d'évaluer l'anxiété des animaux en réponse à un environnement potentiellement menaçant semblent cohérents avec l'ensemble de nos données suggérant une différence dans le traitement des nouveaux contextes selon le protocole de conditionnement, et surtout le type de traitement amenant à l'expression d'une peur généralisée. Les animaux conditionnés au contexte en arrière-plan présenteraient une peur généralisée principalement du fait de l'homologie entre les aspects généraux d'expériences se ressemblant (faible dans l'expérience présente), capables d'évoquer une réponse anxieuse elle-même potentialisée à délai long, mais contrecarrée de la même manière par une exposition à n'importe quel contexte. Cette sensibilisation émotionnelle n'impliquerait pas de modifications à long terme portant sur la comparaison d'un nouveau contexte avec le contexte initial et l'évaluation du risque en découlant. Au contraire, chez les animaux conditionnés à un contexte en avant-plan, l'incubation (au moins en partie) correspondrait plus spécifiquement à une différence dans l'évaluation faite du degré de dangerosité des contextes. Dans ce cadre, nous noterons que l'interprétation des données obtenues dans le test du labyrinthe en croix surélevé restent cohérentes avec la proposition de mécanismes de comparaison, chez ces derniers groupes, avec le contexte initial : l'évitement plus important de contextes confinés est cohérent avec l'hypothèse d'une comparaison du contexte de conditionnement avec le contexte physiquement présent, amenant au déclenchement de réponses comportementales de fuite et d'évitement dans une situation où celle-ci est possible.



Discussion Générale  
Conclusions

---

## DISCUSSION GENERALE

### **I : Rôle des mécanismes émotionnels dans l'expression de la peur conditionnée au contexte à délai long**

#### *1. Incubation et prédictibilité*

L'ensemble des données comportementales obtenues au cours de ce travail de thèse soulève l'importance des modifications émotionnelles dans l'expression d'une peur généralisée, à un délai où la représentation du contexte de conditionnement est tenue pour avoir fait l'objet d'une consolidation systémique. En effet, nous avons retrouvé de manière récurrente, dans nos conditions expérimentales, l'émergence d'une incubation des réponses de peur, comme préalablement décrit dans la littérature suite à un conditionnement (Houston et al., 1999 ; Balogh et al., 2002 ; Frankland et al., 2004). Nous avons pu confirmer que dans nos conditions, la mise en place de cette incubation nécessite que l'exposition à un choc électrique fasse l'objet d'une association, notamment contextuelle (Radulovic et al., 1998 ; Daviu et al., 2010 ; Pamplona et al., 2011 ; Sauerhöfer et al., 2012). Des expériences menées dans le cadre de cette thèse, mais non présentées dans ce manuscrit car n'incluant que des animaux conditionnés au contexte en avant-plan, suggèrent par ailleurs que cette incubation se mette en place quelle que soit l'intensité du choc électrique employé, pour peu que celui-ci soit capable d'induire un conditionnement amenant à des réponses comportementales détectables dès 24 heures. L'ensemble de ces données suggèrent que l'augmentation des réponses de peur avec le temps ne dépendrait pas tant du degré d'aversion provoqué par l'expérience initiale que de mécanismes associatifs et cognitifs accompagnant le conditionnement. Plus particulièrement, l'incubation porterait sur un ensemble de traitements des informations émotionnellement pertinentes, en l'occurrence contextuelles, amenant à un profil d'expression proche de manifestations de type anxieuses. Ce faisant, l'incubation observée dans nos conditions expérimentales se rapprocherait des données de la littérature ayant démontré une augmentation progressive de l'amplitude d'expression des comportements anxieux suite à

l'administration de chocs électriques (Van Dijken et al., 1992b ; Van den Berg et al., 1998 ; Korte & De Boer, 2003). Or, nos données suggèrent que la manifestation de l'incubation puisse être dissociable en fonction du type de conditionnement amenant les animaux à présenter une réponse de peur aux contextes. En effet, elles soulèvent une dissociation entre les animaux conditionnés à un contexte en avant-plan d'une part, dont le profil comportemental suggère un changement dans la manière dont ils appréhendent, à délai long, la dangerosité d'environnements jusque là inconnus ou présentant une certaine ambiguïté dans leur capacité à prédire l'arrivée d'un choc électrique, et les animaux conditionnés à un contexte en arrière-plan d'autre part, dont les réponses de peur généralisée semblent liées principalement aux aspects généraux de la tâche. De manière intéressante, l'imprédictibilité d'évènements aversifs (correspondant au protocole de non-appariement) a été avancée dans la littérature chez l'être humain comme amenant au développement d'une peur au contexte (Grillon et al., 2004), tout en ayant été avancée comme l'un des facteurs pouvant amener au développement de troubles anxieux, notamment le trouble anxieux généralisé pour lequel la peur conditionnée au contexte a été proposée comme un modèle animal potentiel (Luyten et al., 2011b). Les patients atteints de ce trouble semblent par ailleurs présenter une généralisation exacerbée à des stimuli n'étant pas directement associés au SI lors d'expériences de conditionnement (Lissek et al., 2008 ; Lissek, 2012). De plus, une réponse de sursaut accrue lors de l'exposition à des stimuli imprédictibles a été rapportée chez des patients souffrant de stress post-traumatique (Grillon et al., 2009), et une surgénéralisation de la peur conditionnée à des stimuli discrets a été observée chez des patients souffrant de trouble panique (Lissek et al., 2010). L'émergence de modifications liées au traitement d'informations émotionnelles, notamment sur les réponses anxieuses, semblerait donc bien liée à la manière dont la survenue d'un évènement aversif peut être prédite par les éléments de la situation.

## 2. *Incubation et dynamique d'expression des réponses de freezing*

Néanmoins, la manière dont une telle potentialisation des réponses anxieuses se manifeste dans les réponses comportementales de *freezing* nous est apparue présenter quelque différence en fonction de la période temporelle prise en compte. En effet, nos données suggèrent que la peur exprimée en réponse à un contexte puisse suivre une dynamique d'expression marquée par des processus hétérogènes. Ces mécanismes pourraient renvoyer à la subdivision des réponses ayant été proposée initialement par Kamprath et Wotjak (2004), reprise par Riebe & Wotjak (2011), d'une réponse de peur hétérogène impliquant des mécanismes de reconnaissance de l'information-cible, du traitement de l'association de cette information, et de mécanismes non-associatifs en lien avec l'expression émotionnelle et comportementale. Ainsi, nous proposons que la reconnaissance du contexte ou l'évaluation d'un environnement comme non familier soit un processus très rapidement achevé lors de l'exposition des animaux. En effet, nos données suggèrent que dès la première minute les animaux mettent en place des réponses de peur, l'intensité de celles-ci apparaissant d'autant plus importante que le contexte d'exposition est celui qui a été conditionné. Cette observation est cohérente avec les travaux de Fanselow (1986, 1990) sur le déficit de choc immédiat, cet auteur ayant démontré qu'une période de 30 secondes était suffisante au rappel de la représentation du contexte pour qu'elle puisse être conditionnée. Cette reconnaissance immédiate, manifestée par un différentiel dans les niveaux de peur en fonction du contexte, nous est apparue même à des délais où, sur l'ensemble de la séance, les animaux semblent à première vue présenter une peur indifférenciée à l'un ou l'autre des contextes. La peur en début de séance nous est par ailleurs apparue comme la plus sensible à la mise en place d'une extinction, suggérant bien que les mécanismes associatifs recrutés par l'exposition au contexte soient les principaux tenants de la peur exprimée à ce moment de la séance. D'autre part, nos données suggèrent que la réponse tardive exprimée lors des séances d'exposition puisse ne pas être exclusivement sous-tendue par ces mécanismes associatifs. Ainsi, il nous est apparu que cette peur maintenue, dont l'observation semble accompagner l'émergence d'une incubation, se rapporte plus aux niveaux d'anxiété rehaussés avec le passage du temps. La réponse tardive des animaux, de ce point de vue, se rapporterait à une réponse moins associative, se rattachant aux processus d'évaluation de la dangerosité des contextes

nouveaux, i.e. à une anxiété exacerbée. En effet, des réponses d'anxiété plus maintenues dans le temps ont été proposées comme dissociables de réponses de peur délimitées dans le temps, d'un point de vue comportemental comme dans leurs substrats respectifs (Walker et al., 2003 ; Walker & Davis, 2008, Walker et al., 2009).

### 3. *Incubation et évaluation des contextes*

Une telle exacerbation des réponses anxieuses avec le temps, notamment chez les animaux conditionnés à un contexte en avant-plan, pourrait représenter un biais dans l'évaluation du souvenir du contexte, ne permettant pas d'interpréter de manière univoque la présence d'une généralisation comme indicative d'une dégradation de la trace mnésique. En effet, nos résultats suggèrent qu'en approfondissant l'évaluation comportementale du traitement contextuel effectué par les animaux lors de séances d'exposition, une discrimination peut être mise en évidence. Nous avons pu, chez les animaux conditionnés au contexte en arrière-plan, observer cette discrimination directement sur les niveaux de peur lorsqu'une simple exposition à un autre contexte, n'induisant pas d'extinction du contexte initial, précède la séance de test. Chez les animaux conditionnés en avant-plan, nos résultats suggèrent que la mise en place d'apprentissages inhibiteurs présente une spécificité au contexte, même lorsqu'un délai long sépare le conditionnement de la formation de ces nouvelles associations. Ceci suggère que la représentation du contexte initial soit bien rappelée spécifiquement lors de l'exposition à celui-ci. Mais aussi, nos résultats suggèrent que des représentations en mémoire différentes pourraient affecter simultanément l'expression de la peur au contexte : une représentation de type épisodique, renvoyant à cette spécificité, et une trace plus générale, qui quant à elle ferait plus spécifiquement l'objet d'une incubation. Après mise en place d'une incubation, les aspects généraux de la tâche induiraient des réponses de peur plus fortes. Or, nous avons vu qu'en contrecarrant l'expression de la peur liée à ces aspects, un contrôle des réponses de peur par un souvenir du contexte (de type épisodique) reste détectable. De manière intéressante, cette peur « résiduelle » au contexte de conditionnement ne semble que peu faire l'objet d'une incubation, lorsqu'elle testée après une séance d'exposition à un autre contexte. Ceci apparaîtrait cohérent avec l'hypothèse de

Kamprath et Wotjak (2004) d'une composante associative faisant peu l'objet de variations en amplitude (réponses en « tout-ou-rien »).

Nos résultats suggèrent donc qu'une incubation des réponses de peur puisse représenter un biais non négligeable dans l'utilisation de la peur conditionnée au contexte comme outil d'évaluation d'une mémoire de type épisodique. Or, ils nous amènent également à reconsidérer certains arguments fréquemment évoqués pour exclure la mise en place d'un tel biais émotionnel. Ainsi, l'absence d'atteinte d'un niveau maximal d'expression lors de l'exposition au contexte de conditionnement a été avancée comme argument en faveur d'une augmentation de la peur exclusivement liée à des contextes inconnus (Wiltgen & Silva, 2007). Or, nos données suggèrent qu'une incubation des réponses de peur puisse, dans certaines conditions, ne pas se manifester sur l'ensemble de la séance lors de l'exposition au contexte de conditionnement mais spécifiquement concerner les périodes temporelles de l'expression de la peur correspondant à la mise en place d'une réponse de type anxieuse. Une telle spécificité temporelle, ne concernant pas la réponse initiale des animaux, pourrait en effet ne pas se traduire par des niveaux maximaux de peur tout au long de la séance. Un autre argument fréquemment avancé en faveur d'une interprétation de la généralisation comme dégradation de la représentation du contexte consiste en l'observation par Biedenkapp et Rudy (2007) d'une discrimination à délai long (15 jours) lorsque les animaux (conditionnés au contexte en avant-plan) ont été préexposés au contexte de conditionnement mais pas à un autre contexte. A cet argument, nous pourrions opposer qu'une préexposition au contexte de conditionnement, si elle permet bien l'acquisition d'une représentation de ce contexte, fait aussi l'objet d'un apprentissage associatif inhibiteur (de type inhibition latente). Or, ce type d'apprentissage, hautement spécifique au contexte, est connu pour interférer avec la mise en place d'un conditionnement. L'incubation semblant se développer sur la base d'un conditionnement au contexte (Radulovic et al., 1998 ; Daviu et al., 2010 ; Pamplona et al., 2011 ; Sauerhöfer et al., 2012), comme le confirment nos données, il est envisageable que la préexposition au contexte, en s'opposant à ce conditionnement, régule la mise en place d'une incubation. A terme, ceci pourrait se manifester par une généralisation moins marquée chez les animaux ayant fait l'objet d'une préexposition.

4. Conclusion : incubation et souvenir du contexte

Dans l'ensemble, nos résultats tendent à démontrer que, dans nos conditions expérimentales, la généralisation des réponses de peur ne soit pas directement liée à une dégradation du souvenir du contexte (Riccio et al., 1992 ; Biedenkapp & Rudy, 2007), ou à l'utilisation d'une représentation qualitativement différente de celle sollicitée à délai court et dépourvue de détails (Winocur et al., 2010). Concernant ce dernier point, nos résultats suggèrent plutôt que si une telle représentation de type « schématique » (se rapprochant de ce que nous avons désigné par les caractéristiques générales de la situation) devait contribuer aux réponses de peur exprimées par les animaux, elle serait recrutée simultanément à la représentation contextuelle de type épisodique, sans s'y substituer. De plus, une telle représentation ne saurait expliquer l'ensemble des modifications émotionnelles que nous avons pu mettre en évidence : elle manque notamment de rendre compte des spécificités dans le traitement des informations contextuelles ambiguës qui semblent se développer avec le temps chez les animaux conditionnés au contexte en avant-plan.

Or, si nos données suggèrent que la représentation en mémoire du contexte soit bien résistante au passage du temps, bien que sa détection nécessite une analyse approfondie du comportement des animaux, elles apportent également un éclairage sur les circuits potentiellement impliqués dans le rappel de cette représentation, ainsi que les processus de traitement émotionnel associés à l'incubation.

---

## II : Substrats neurobiologiques potentiels de la représentation du contexte et des modifications émotionnelles

### 1. *Hippocampe et représentation du contexte*

Mises au regard de notre expérience initiale d'immunomarquage, nos résultats comportementaux nous amènent à formuler un certain nombre de pistes relatives au substrat neurobiologique impliqué dans le rappel des souvenirs anciens. En effet, nous avons pu mettre en évidence une activité de l'hippocampe relativement stable au cours de nos expériences chez les animaux conditionnés. Si nous retrouvons une réduction relative de l'activité hippocampique par rapport à des témoins non-conditionnés, ce qui a préalablement été mis en évidence (Frankland et al., 2004), l'ensemble des données que nous avons recueillies chez ces derniers animaux suggère que l'utilisation de tels groupes contrôles induise un biais dans l'évaluation à long terme de « l'engramme de la trace du contexte » tel qu'il est inféré par l'activation d'un marqueur tel que c-Fos. En effet, ces animaux ne sont pas exposés à une situation initiale équivalente d'un point de vue émotionnel, et un ensemble convergent de données suggère que l'émotion associée à une expérience influence directement sa mémorisation (Bergado et al., 2011). Cette influence de l'état émotionnel sur l'activation de l'hippocampe a été retrouvée dans notre expérience complémentaire, et il est probable que l'observation d'une augmentation de l'activité dans ces groupes, aux délais longs dans notre expérience initiale, se rapporte à l'implication de cette structure dans le ré-encodage de contextes moins bien consolidés (Jenkins et al., 2004 ; Wirtshafter, 2005 ; VanElzakker et al., 2008 ; Rinaldi et al., 2010). Ainsi, l'activation de l'hippocampe dorsal dans le rappel de l'information nous est apparue comme se caractérisant par un niveau d'activité moins important que celui impliqué dans le rappel, l'activation globalement plus importante dans ce dernier cas pouvant être liée à la sollicitation de la boucle polysynaptique dans son ensemble (Garcia et al., 1998 ; Lee & Kesner, 2004 ; Remondes & Schuman, 2004 ; Dumas et al., 2005 ; Vago et al., 2007 ; Ji & Maren, 2008 ; Albasser et al., 2010). Ce faisant, un niveau d'activité stable de cette structure nous est apparu, suggérant une absence de « désengagement » dans notre protocole expérimental. Mis au regard de notre capacité à démontrer, à délai long, une représentation du contexte toujours suffisamment détaillée pour

permettre un traitement différentiel du contexte initial, ce patron d'activité va à l'encontre des prédictions de la théorie standard de la consolidation : la représentation contextuelle, qualitativement conservée, ne « migrerait » pas vers des réseaux néocorticaux. Ainsi, nos données iraient plutôt en faveur de la théorie des traces multiples, proposant un maintien de l'implication de l'hippocampe dans le rappel au cours du temps (Nadel & Moscovitch, 1997). De manière intéressante, l'un des arguments majeurs en faveur de cette théorie consiste en l'observation d'une absence de gradient temporel d'amnésie rétrograde lorsque des lésions de l'hippocampe s'étendent jusqu'à une portion plus ventrale de cette structure (Sutherland, 2010). Or, nous avons pu observer que l'activité de l'hippocampe ventral semble présenter une activité cohérente avec celle d'un facteur dont l'implication semble augmenter avec le temps, ce qui inscrit nos résultats dans la continuité des arguments expérimentaux en faveur de cette théorie : l'hippocampe resterait impliqué (si ce n'est impliqué de manière plus large) dans le rappel d'une information de type épisodique ancienne (chez l'humain : Maguire et al., 2001 ; Ryan et al., 2001 ; Nadel et al., 2007 ; Viard et al., 2010 ; chez l'animal : Lehmann et al., 2007 ; Sutherland et al., 2008).

Concernant l'amendement récent apporté à cette théorie, à savoir l'hypothèse de la transformation (Winocur et al., 2010), nos résultats nous amènent cependant à des conclusions plus nuancées. En effet, notre situation expérimentale suggère qu'une implication maintenue de l'hippocampe dans le rappel d'une information de type épisodique, détaillée, puisse tout de même être associée à une généralisation des réponses de peur. Ainsi, si Winocur et ses collaborateurs (2007) proposaient qu'une trace dépendante de l'hippocampe puisse rester disponible à ce délai, leur hypothèse de la coexistence de deux traces prédit la dominance d'une trace générale sur la trace détaillée dépendante de l'hippocampe dans le contrôle des réponses généralisée. Or, comme nous le mentionnions précédemment, nos résultats suggèrent que la généralisation des réponses de peur puisse ne pas être uniquement liée à l'expression d'une trace appauvrie en détails. Aussi, si nous ne pouvons exclure que l'augmentation des réponses de peur avec le temps aux aspects généraux de l'expérience soit sous-tendue par une représentation du contexte plus schématique, disposant avec le passage du temps d'un contrôle accru sur l'expression des réponses de peur, il est notable que nos données suggèrent que la sollicitation de cette trace ne soit pas antagoniste avec un rappel de type épisodique. De plus, si cette trace de type sémantique devait, comme le suggère cette théorie, être liée à l'activité de réseaux néocorticaux, nos données iraient plutôt dans le sens d'une sollicitation

conjointe de la trace épisodique dépendante de l'hippocampe et de la trace sémantique rappelée sous le contrôle du cortex préfrontal médian. En effet, nous observons chez les animaux conditionnés une activité hippocampique préservée en dépit d'une activité préfrontale plus marquée.

### *2. Cortex préfrontal et traitement cognitif en lien avec les émotions*

Si l'observation d'une activité préfrontale plus marquée à délai long, cohérente avec des observations antérieures (Bontempi et al., 1999 ; Frankland et al 2004 ; Maviel et al 2004), pourrait effectivement être interprétée comme révélatrice de la sollicitation d'une représentation schématisée de l'expérience de conditionnement dans le cadre de cette théorie, nos données suggèrent une interprétation alternative à cette sollicitation. En effet, l'activité accrue de ces zones corticales à un délai de 28 jours a été observée, chez nos animaux, de manière plus particulière lorsqu'ils étaient conditionnés à un contexte en arrière-plan. Ces groupes semblent bien présenter une généralisation des réponses de peur impliquant les caractéristiques générales de l'expérience, ce qui apparaîtrait cohérent avec cette hypothèse. Néanmoins, nos résultats impliqueraient que l'activité moins marquée du cortex préfrontal au même délai chez les animaux conditionnés en avant-plan marquerait chez eux un moindre rappel de cette représentation. Or, rien ne nous permet d'affirmer que ces aspects généraux revêtent une influence moindre chez ces animaux dans la généralisation des réponses de peur. Bien au contraire, nos données suggèrent que lors de l'exposition au contexte de conditionnement à 28 jours, l'observation d'une incubation soit pour part liée à ces caractéristiques générales (dont les effets semblent contrecarrés par l'exposition à un nouveau contexte). De fait, des explications alternatives apparaîtraient plus à même d'expliquer nos résultats. Notamment, la forte cohérence dans nos données de l'activité préfrontale avec celle de l'hippocampe ventral et de l'amygdale basolatérale suggère une implication accrue de cette structure dans des traitements émotionnels de haut-niveau en lien avec le contexte. En effet, s'il est communément admis que l'amygdale basolatérale soit une structure-clé de l'apprentissage d'une peur au contexte, et que l'hippocampe ventral soit une structure impliquée dans un système d'inhibition comportementale lié aux émotions (McNaughton & Corr, 2004), il est notable que le cortex préfrontal ait été lui-même impliqué dans la régulation

des réponses dépendantes de ces structures. Le cortex prélimbique, en effet, semble avoir un rôle activateur sur l'activité amygdalienne, tandis que le cortex infralimbique a été largement démontré comme un locus central du traitement des informations en lien avec l'extinction (Gilmartin & McEchron, 2005 ; Vidal-Gonzalez et al., 2006 ; Corcoran & Quirk, 2007 ; Sotres-Bayon & Quirk, 2010 ; Sierra-Mercado et al., 2011). Le cortex cingulaire quant à lui, outre son implication dans les traitements douloureux (Johansen et al., 2001 ; Kung et al., 2003 ; Gao et al., 2004) et l'acquisition d'une peur conditionnée (Tang et al., 2005 ; Frankland & Teixeira, 2005 ; Malin & McGaugh, 2006), a été démontré comme ayant un rôle dans la modulation de l'activité de l'amygdale basolatérale lors d'un conditionnement à un son (Bissière et al., 2008). Une expérience récente suggère ainsi qu'un rôle de ce cortex consiste en la prédiction de l'arrivée d'un choc électrique par un SC, rôle lié à la connectivité de cette structure avec l'amygdale basolatérale (Steenland et al., 2012). Aussi, il est probable que l'activité accrue du cortex préfrontal à délai long vienne marquer, chez des animaux conditionnés au contexte en arrière-plan, pas tant le rappel d'une représentation contextuelle que de l'ensemble des stimuli permettant de prédire l'arrivée du SI. En effet, chez des animaux conditionnés à des SC discrets, le contexte est tenu pour tenir le rôle d'*occasion setter*, indicateur de la validité d'une association à un SC discret, indépendamment de l'association entre le contexte et le SI (Bouton & Swartzentruber, 1986 ; Swartzentruber, 1991 ; Brooks & Bouton 1993 ; Bouton, 2004). Ainsi, il est possible que l'activité préfrontale vienne marquer le rappel, évoqué par les informations contextuelles et / ou générales de la situation, des relations entre le SC et le SI ayant été apprises par les animaux, d'où une augmentation de l'activité de cette structure plus marquée chez nos animaux conditionnés à un son. Un tel rôle dans un traitement de haut-niveau des informations par le cortex cingulaire antérieur, permettant une régulation des réponses de peur par les cortex prélimbique et infralimbique, apparaîtrait donc comme l'hypothèse la plus probable pour expliquer la dynamique d'activation de cette zone à travers le temps.

### 3. Amygdale étendue et réponses de peur

Si ce traitement cognitif en amont de la mise en place des réponses de peur pourrait sous-tendre les modifications comportementales observées à délai long chez les animaux conditionnés au contexte en arrière-plan, nos résultats suggèrent que chez les animaux conditionnés au contexte en avant-plan, les réponses de peur au contexte faisant l'objet d'une incubation pourraient être sous-tendues par des mécanismes différents sur un plan neuro-anatomique. En effet, ces groupes semblent présenter une augmentation de l'activité des circuits amygdaliens, notamment du noyau du lit de la strie terminale (NST). Or, ce noyau a été rapporté comme impliqué dans l'expression d'une peur au contexte (Sullivan et al., 2004 ; Hammack et al., 2004 ; Resstel et al., 2008 ; Luyten et al., 2011a), et semble de manière plus générale sous-tendre des réponses d'anxiété, différant de réponses de peur notamment par leur dynamique d'expression à travers le temps (Lee & Davis, 1997 ; Walker & Davis, 1997 ; Walker et al., 2003). De manière intéressante, une augmentation de l'activité de ce noyau apparaît à un délai où nous avons montré que les réponses de peur se caractérisaient, dans le groupe conditionné au contexte en avant-plan, par leur maintien au cours de la séance. Nos résultats suggèrent en effet, qu'à délai long, ces animaux se caractérisent par l'émergence d'une anxiété accrue en réponse à des contextes présentant une certaine ambiguïté dans leur capacité à prédire l'arrivée d'un choc électrique. Il est donc probable que ce tenant de l'incubation (et de la généralisation), marqué par une évaluation biaisée de la dangerosité de contextes inconnus corollaire à une anxiété exacerbée, puisse être en lien avec une activité accrue de ce noyau. Aussi, il semblerait qu'une hypothèse de l'incubation en tant que sensibilisation des circuits impliqués dans l'expression comportementale (Houston et al., 1999), soit observable dans ces conditions particulières de conditionnement au contexte en avant-plan, sur un substrat impliqué dans la genèse de réponses anxieuses. Dans ce cadre, une autre observation intéressante concerne les patrons d'activation observés dans la substance grise périaqueducule (PAG). En effet, nos résultats suggèrent que l'activité de la portion dorsolatérale de la PAG soit plus associée aux modifications à long terme de l'activité dans les structures « de sortie » de la peur. Or, classiquement, le *freezing* observé dans des expériences de conditionnement est attribué aux projections de l'amygdale vers la PAG ventrolatérale (De Oca et al., 1998 ; Vianna & Brandão, 2003 ; Walker & Carrive, 2003).

Cependant, la PAG dorsolatérale a été proposée comme impliquée dans l'expression d'une immobilité lors d'un danger plus imminent, précédant une réponse de fuite ou de combat, par opposition à la PAG ventrolatérale impliquée dans un *freezing* défensif (Vianna & Brandão, 2003 ; Brandão et al., 2008). De manière intéressante, nous avons suggéré, dans notre expérience d'exposition au labyrinthe en croix surélevé, qu'à délai long les réponses des animaux puissent exprimer l'évaluation d'une menace plus imminente amenant à la mise en place de comportements d'évitement des branches fermées. Ainsi, il est probable que des modifications associées à l'incubation, dans les structures impliquées dans l'expression de la peur, puissent se manifester par un recrutement différentiel au niveau de la PAG.

#### 4. Conclusions

En définitive, la mise au regard de nos données d'imagerie et de nos données comportementales apporte quelques éléments soulignant la multiplicité des processus de traitement de l'information sollicités lors de l'expression d'une peur conditionnée à délai long :

1> Dans nos conditions expérimentales, une implication maintenue de l'hippocampe serait associée au rappel d'une représentation du contexte détaillée.

2> Celle-ci ne saurait être évaluée par la seule observation des gradients de généralisation, ceux-ci semblant eux-mêmes perturbés par la mise en place d'une incubation.

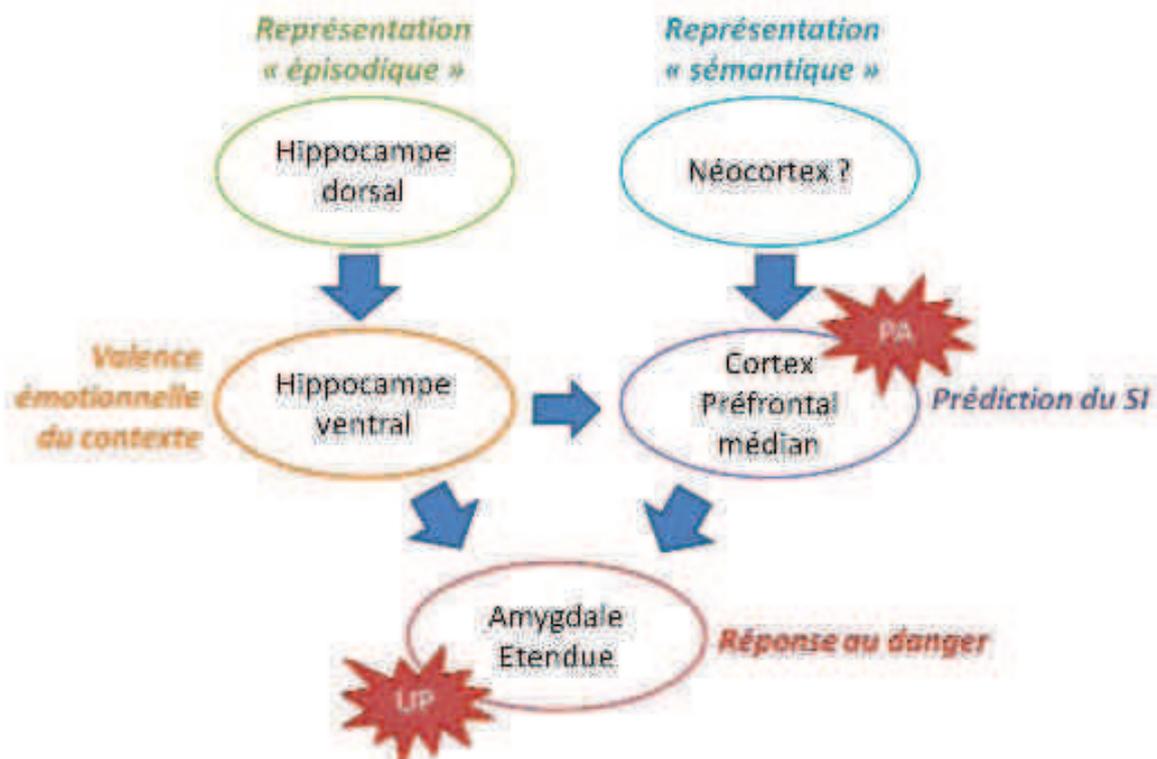
3> Cette incubation pourrait, dans certains cas, être liée à des modifications portant sur l'évaluation de l'imminence d'un danger, elles-mêmes associées à une forme de sensibilisation des circuits impliqués dans l'expression des réponses de peur et d'anxiété. Néanmoins, une telle sensibilisation semble ne se mettre en place que lorsque les chocs administrés aux animaux sont moins prédictibles, amenant à un conditionnement au contexte en avant-plan.

4> Lorsque les chocs sont prédits par un son, il est envisageable qu'une incubation se manifeste plus particulièrement dans l'évocation de cette association initiale par des indices généraux associés à l'expérience de conditionnement. Une telle modification au cours du temps dans les traitements associatifs de haut-niveau régulant l'expression des émotions pourrait être attribuable au fonctionnement du cortex préfrontal médian.



## CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

En définitive, les travaux effectués dans le cadre de cette thèse nous amènent à proposer un modèle anatomo-fonctionnel permettant de rendre compte des modifications dans l'expression comportementale d'une peur conditionnée au contexte anciennement acquise.



**Figure :** Modèle général résumant les rôles fonctionnels des principaux ensembles structurels impliqués dans le traitement de l'information permettant l'expression d'une peur conditionnée au contexte. Cette figure indique les *loci* potentiellement impliqués dans la mise en place d'une incubation des réponses de peur chez des animaux conditionnés au contexte en arrière-plan (PA) ou en avant-plan (UP).

Ce modèle, bien que simplifié et élaboré sur des hypothèses progressivement élaborées au cours de ces dernières années, apparaîtrait néanmoins cohérent avec les données les plus récentes sur les interactions entre l'hippocampe et le cortex préfrontal médian (notamment cingulaire) dans le rappel de l'information. Ainsi, une expérience récente utilisant une technique d'optogénétique, permettant un haut degré de précision temporel dans l'inhibition de l'activité de structures cérébrales, suggère que la peur conditionnée au contexte ancienne implique toujours l'hippocampe : une inactivation brève (limitée à la séance

d'exposition) de cette structure semble induire un déficit d'expression de la peur quel que soit le délai, contrairement à une inhibition prolongée (débutée 30 min avant l'exposition, plus directement comparable aux études lésionnelles) qui présente un gradient temporel d'amnésie rétrograde (Goshen et al., 2011). Ceci suggère que la mise en place de mécanismes de compensation liée à l'indisponibilité prolongée de l'hippocampe soit une condition nécessaire à l'observation d'un gradient temporel d'amnésie rétrograde lié à la résection de cette structure. Chez l'animal « intact », l'hippocampe resterait impliqué dans le rappel de l'information contextuelle. Si ces auteurs soulignent qu'une activité faible de l'hippocampe est rapportée dans la plupart des études d'imagerie chez le rongeur (Bontempi et al., 1999 ; Frankland et al., 2004 ; Maviel et al., 2004), ils proposent, comme nous, qu'une activation minimale de l'hippocampe suffise à ce rappel. De manière intéressante, ces auteurs rapportent que l'inactivation brève, mais pas prolongée, de l'hippocampe induit une réduction de l'activité du cortex cingulaire antérieur et de l'amygdale basolatérale, tandis que l'inactivation du cortex cingulaire antérieur bloque l'expression d'une peur à délai long. Ceci a amené les auteurs à suggérer que l'activité du cortex cingulaire antérieur à délai long puisse d'une part être dépendante de ses interactions avec l'hippocampe chez l'animal « intact » (comme le suggèrent les inhibitions brèves), tout en représentant d'autre part une structure de compensation mise en jeu lorsque les traitements hippocampiques sont rendus inaccessibles pour un temps plus long. Selon McKenzie & Eichenbaum (2012), ces résultats pourraient renvoyer à un rôle du cortex cingulaire antérieur dans l'évaluation de différentes traces du contexte disponibles à délai long, en contrôlant la mise en compétition de traces dépendantes de l'hippocampe avec des représentations néocorticales. Ces hypothèses, basées sur des données obtenues chez des animaux conditionnés au contexte en arrière-plan, sembleraient cohérentes avec notre modèle : en temps normal, le cortex cingulaire antérieur serait impliqué dans la comparaison de l'ensemble des stimuli (y compris différentes représentations du contexte) potentiellement prédictifs de l'arrivée d'un choc électrique, et serait impliqué dans la régulation de l'expression des réponses de peur en réponse à l'un de ces stimuli.

Notre proposition d'une telle organisation anatomo-fonctionnelle des substrats neurobiologiques impliqués dans les traitements de l'information sous-tendant la peur à délai long nous permet, de plus, de formuler un certain nombre d'hypothèses. Par exemple, il nous amène à proposer que la représentation du contexte (de type épisodique) dépendante de l'hippocampe soit peu sensible au passage du temps. Si nos données d'immunohistochimie

semblent appuyer cette hypothèse, il serait envisageable de vérifier ceci par exemple avec une lésion de cette structure effectuée à délai long. Celle-ci ne devrait cependant pas nécessairement amener à une abolition complète de la peur à délai long. En effet, il est probable que les aspects plus généraux de l'exposition aux contextes restent capables d'induire des niveaux de peur conséquents à ces délais, ce qui est déjà suggéré par les données de la littérature (Winocur et al., 2007). Néanmoins, nous pourrions nous attendre à ce qu'un traitement différentiel dans l'acquisition d'associations inhibitrices, telles que nous les avons développées dans ce travail de thèse, ne présente pas un différentiel marqué en fonction du contexte d'exposition.

Une autre prédiction d'un tel modèle consisterait à évaluer l'implication du cortex préfrontal médian dans la mise en place d'une incubation chez les animaux conditionnés à un son. Dans ce cadre, l'une des sous-structures apparaissant comme une cible potentielle pourrait être le cortex prélimbique. Celui-ci semble en effet participer à une augmentation de l'intensité des réponses de peur, et pourrait être le principal relai par lequel le traitement des informations liées aux associations du SI (ses prédicteurs et leur extinction) amènerait à des réponses de peur amplifiées à délai long. Aussi, nous pourrions émettre l'hypothèse que la lésion ou l'inactivation de cette structure à un délai long n'abolisse pas complètement l'expression d'une peur au contexte chez les animaux conditionnés à un son, mais amène à des niveaux de peur équivalents à ceux observés à délai court. Ou encore, des données d'enregistrement électrophysiologique *in vivo* ayant rapporté une corrélation entre l'activité de cette structure et les réponses de *freezing* (Burgos-Robles et al., 2009), nous pourrions tenter d'évaluer l'activité de cette structure à délai long, pour en asseoir l'implication dans l'expression de réponses de peur plus amples voir plus prolongées.

Enfin, nous pourrions tenter d'évaluer le rôle du noyau du lit de la strie terminale dans l'émergence d'une anxiété exacerbée à délai long suite à un conditionnement. Notamment, il pourrait être intéressant d'interroger son rôle soit dans la mise en place d'une incubation chez les animaux conditionnés au contexte en avant-plan, soit dans son expression. Aussi, la comparaison d'animaux dont une lésion de cette structure est effectuée soit peu de temps après un conditionnement, soit peu avant un test à délai long, permettrait d'évaluer l'importance de mécanismes plastiques, de mise en place progressive, au niveau de cette structure dans l'émergence d'une réponse « sensibilisée ». En effet, si certaines données suggèrent un rôle nécessaire de cette structure dans l'expression d'une peur au contexte à

délai court (Sullivan et al., 2004 ; Luyten et al., 2011a), d'autres suggèrent qu'elle ne soit non pas impliquée dans l'expression des comportements défensifs en tant que tels, mais plutôt dans leur sensibilisation induite par un choc électrique (Hammack et al., 2004). Si tel devait être le cas, nous pourrions alors tenter de déterminer par quels mécanismes une séance de conditionnement amènerait à une sensibilisation de cette structure, spécifiquement lorsqu'un contexte est conditionné en avant-plan, mais pas en arrière-plan. Le noyau médian du NST recevant des projections de l'amygdale basale, du subiculum ventral, ainsi que des cortex infralimbique et entorhinal, il est possible que le conditionnement amène au déclenchement de mécanismes plastiques dans les projections relayant l'information hippocampique vers ces structures. Aussi, le conditionnement au contexte s'établissant en avant-plan ou en arrière-plan en fonction de la régulation de l'activité de l'hippocampe par le septum (Desmedt et al., 1998 ; Calandreau et al., 2007), il est possible que ce soit cette régulation dépendante du septum qui puisse amener à une sensibilisation avec le temps de l'activité de ce noyau.

Ces trois axes généraux de recherche devraient nous permettre, *in fine*, de nous rapprocher d'une compréhension plus globale des conséquences à long terme, mnémoniques comme émotionnelles, d'un conditionnement au contexte. En effet, celles-ci ne sauraient être entreprises sous un angle purement mnésique. Et si tel devait être le cas, l'utilisation de ce type d'apprentissages dans l'étude de la mémoire ne devrait pas se limiter à des interprétations évacuant *a priori* toute prise en compte de la chaîne complexe de mécanismes associatifs permettant la mise en lien d'une représentation contextuelle reconnue aux réponses comportementales observées. Bien que stéréotypées, les réponses de peur conditionnée exprimées par les animaux sont la conséquence de traitements largement hétérogènes, impliquant un haut niveau d'intégration de ces multiples informations. De la même manière, certains truismes, au-delà de leur évidente simplicité, sont parfois empreints d'un degré de sophistication qu'on aurait tort de négliger avec trop d'empressement. Car finalement, le sens le plus commun suggère déjà que « ces lieux qui présentent un haut degré d'évocabilité dans notre mémoire, ceux dont nous jugeons pouvoir en restituer le moindre détail, sont généralement des endroits ayant revêtu, au cours de notre vie, une pertinence particulière ».

# Bibliographie

---

**BIBLIOGRAPHIE****A -**

Adamec RE, Shallow T (1993) Lasting effects on rodent anxiety of a single exposure to a cat. *Physiology & Behavior* 54: 101-109.

Aggleton JP (2012) Multiple anatomical systems embedded within the primate medial temporal lobe: Implications for hippocampal function. *Neuroscience and Biobehavioral Review* 36: 1579-1596.

Aggleton JP, Brown MW (1999) Episodic memory, amnesia and the hippocampal-anterior thalamic axis. *Behavioral and Brain Sciences* 22: 425-444.

Akirav I, Richter-Levin G (1999) Biphasic modulation of hippocampal plasticity by behavioral stress and basolateral amygdala stimulation in the rat. *Journal of Neuroscience* 19: 10530-10535.

Albasser MM, Poirier GL, Aggleton JP (2010) Qualitatively different modes of perirhinal-hippocampal engagement when rats explore novel vs. familiar objects as revealed by c-Fos imaging. *European Journal of Neuroscience* 31: 134-147.

Alheid GF (2003) Extended amygdala and basal forebrain. *Amygdala in Brain Function: Basic and Clinical Approaches* 985: 185-205.

Alvarez P, Squire LR (1994) Memory consolidation and the medial temporal lobe. A simple network model. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 91: 7041-7045.

Amano T, Wada E, Yamada D, Zushida K, Maeno H, Noda M, Wada K, Sekiguchi M (2008) Heightened amygdala long-term potentiation in neurotensin receptor type-1 knockout mice. *Neuropsychopharmacology* 33: 3135-3145.

Amaral, DG and Witter M P (1995). *The rat nervous system*, 2nd ed. (G. Paxinos), pp.443-493. Academic Press, New York.

Amin E, Pearce JM, Brown MW, Aggleton JP (2006) Novel temporal configurations of stimuli produce discrete changes in immediate-early gene expression in the rat hippocampus. *European Journal of Neuroscience* 24: 2611-2621.

Amorapanth P, Ledoux JE, Nader K (2000) Different lateral amygdala outputs mediate reactions and actions elicited by a fear-arousing stimulus. *Nature Neuroscience* 3: 74-79.

Anagnostaras SG, Gale GD, Fanselow MS (2001) Hippocampus and contextual fear conditioning: Recent controversies and advances. *Hippocampus* 11: 8-17.

Anagnostaras SG, Maren S, Fanselow MS (1999) Temporally graded retrograde amnesia of contextual fear after hippocampal damage in rats: Within-subjects examination. *Journal of Neuroscience* 19: 1106-1114.

Astur RS, Taylor LB, Mamelak AN, Philpott L, Sutherland RJ (2002) Humans with hippocampus damage display severe spatial memory impairments in a virtual Morris water task. *Behavioural Brain Research* 132: 77-84.

Atkinson R C, Shiffrin R M (1968). Human memory: A proposed system and its control processes. *Psychology of learning and motivation: II*, 249.

## **B -**

Baddeley A (2010) Working memory. *Current Biology* 20: R136-R140.

Baddeley A (2012) Working Memory: Theories, Models, and Controversies. *Annual Review of Psychology*, Vol 63 63: 1-29.

Baldi E, Lorenzini CA, Bucherelli C (2004) Footshock intensity and generalization in contextual and auditory-cued fear conditioning in the rat. *Neurobiology of Learning and Memory* 81: 162-166.

Balogh SA, Radcliffe RA, Logue SF, Wehner JA (2002) Contextual and cued fear conditioning in C57BL/6J and DBA/2J mice: Context discrimination and the effects of retention interval. *Behavioral Neuroscience* 116: 947-957.

Barnes CA (1988) Spatial-learning and memory processes - the search for their neurobiological mechanisms in the rat. *Trends in Neurosciences* 11: 163-169.

Barr WB, Ashtari M, Schaul N, Bogerts B (1990) Relations between hippocampal volume and memory in patients with intractable seizures. *Journal of Clinical and Experimental Neuropsychology* 12: 86-87.

Bast T (2007) Toward an integrative perspective on hippocampal function: From the rapid encoding of experience to adaptive behavior. *Reviews in the Neurosciences* 18: 253-281.

Bast T, Wilson IA, Witter MP, Morris RGM (2009) From rapid place learning to behavioral performance: A key role for the intermediate hippocampus. *Plos Biology* 7: 730-746.

Bayley PJ, Hopkins RO, Squire LR (2003) Successful recollection of remote autobiographical memories by amnesic patients with medial temporal lobe lesions. *Neuron* 38: 135-144.

Berendse HW, Groenewegen HJ (1991) Restricted cortical termination fields of the midline and intralaminar thalamic nuclei in the rat. *Neuroscience* 42: 73-102.

Bergado JA, Lucas M, Richter-Levin G (2011) Emotional tagging-A simple hypothesis in a complex reality. *Progress in Neurobiology* 94: 64-76.

- Bernard JF, Bester H, Besson JM (1996) Involvement of the spino-parabrachio-amygdaloid and -hypothalamic pathways in the autonomic and affective emotional aspects of pain. *Emotional Motor System* 107: 243-255.
- Biedenkapp JC, Rudy JW (2007) Context preexposure prevents forgetting of a contextual fear memory: Implication for regional changes in brain activation patterns associated with recent and remote memory tests. *Learning & Memory* 14: 200-203.
- Biedenkapp JC, Rudy JW (2009) Hippocampal and extrahippocampal systems compete for control of contextual fear: Role of ventral subiculum and amygdala. *Learning & Memory* 16: 38-45.
- Bissiere S, Plachta N, Hoyer D, McAllister KH, Olpe HR, Grace AA, Cryan JF (2008) The rostral anterior cingulate cortex modulates the efficiency of amygdala-dependent fear learning. *Biological Psychiatry* 63: 821-831.
- Blanchard RJ, Blanchard DC (1969) Crouching as an index of fear. *Journal of Comparative and Physiological Psychology* 67: 370-375.
- Blanchard DC, Griebel G, Blanchard RJ (2001) Mouse defensive behaviors: pharmacological and behavioral assays for anxiety and panic. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 25: 205-218.
- Blanchard DC, Griebel G, Pobbe R, Blanchard RJ (2011) Risk assessment as an evolved threat detection and analysis process. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 35: 991-998.
- Blanchard RJ, Yudko EB, Rodgers RJ, Blanchard DC (1993) Defense system psychopharmacology - An ethological approach to the pharmacology of fear and anxiety. *Behavioural Brain Research* 58: 155-165.
- Blum S, Hebert AE, Dash PK (2006) A role for the prefrontal cortex in recall of recent and remote memories. *Neuroreport* 17: 341-344.
- Bohbot VD, Allen JJB, Nadel L (2000) Memory deficits characterized by patterns of lesions to the hippocampus and parahippocampal cortex. *Parahippocampal Region* 911: 355-368.
- Bolhuis JJ, Stewart CA, Forrest EM (1994) Retrograde-amnesia and memory reactivation in rats with ibotenate lesions to the hippocampus or subiculum. *Quarterly Journal of Experimental Psychology Section B-Comparative and Physiological Psychology* 47: 129-150.
- Bolles RC, Fanselow MS (1980) A perceptual-defensive-decuperative model of fear and pain. *Behavioral and Brain Sciences* 3: 291-301.
- Bontempi B, Laurent-Demir C, Destrade C, Jaffard R (1999) Time-dependent reorganization of brain circuitry underlying long-term memory storage. *Nature* 400: 671-675.
- Bouton ME (2002) Context, ambiguity, and unlearning: Sources of relapse after behavioral extinction. *Biological Psychiatry* 52: 976-986.

Bouton ME (2004) Context and behavioral processes in extinction. *Learning & Memory*. 11:485-94.

Bouton ME, Bolles RC (1979) Contextual Control of the Extinction of Conditioned Fear. *Learning and Motivation* 10: 445-466.

Bouton ME, Swartzentruber D (1986) Analysis of the associative and occasion-setting properties of contexts participating in a pavlovian discrimination. *Journal of Experimental Psychology-Animal Behavior Processes* 12: 333-350.

Brandao ML, Zanoveli JM, Ruiz-Martinez RC, Oliveira LC, Landeira-Fernandez J (2008) Different patterns of freezing behavior organized in the periaqueductal gray of rats: Association with different types of anxiety. *Behavioural Brain Research* 188: 1-13.

Brooks DC, Bouton ME (1993) A retrieval cue for extinction attenuates spontaneous-recovery. *Journal of Experimental Psychology-Animal Behavior Processes* 19: 77-89.

Brooks DC, Bouton ME (1994) A retrieval cue for extinction attenuates response recovery (renewal) caused by a return to the conditioning context. *Journal of Experimental Psychology-Animal Behavior Processes* 20: 366-379.

Brujinzeel AW, Stam R, Compaan JC, Croiset G, Akkermans LMA, Olivier B, Wiegant VM (1999) Long-term sensitization of Fos-responsivity in the rat central nervous system after a single stressful experience. *Brain Research* 819: 15-22.

Burgos-Robles A, Vidal-Gonzalez I, Quirk GJ (2009) Sustained conditioned responses in prelimbic prefrontal neurons are correlated with fear expression and extinction failure. *Journal of Neuroscience* 29: 8474-8482.

Burwell RD, Amaral DG (1998a) Perirhinal and postrhinal cortices of the rat: Interconnectivity and connections with the entorhinal cortex. *Journal of Comparative Neurology* 391: 293-321.

Burwell RD, Amaral DG (1998b) Cortical afferents of the perirhinal, postrhinal, and entorhinal cortices of the rat. *Journal of Comparative Neurology* 398: 179-205.

Burwell RD, Saddoris MP, Bucci DJ, Wiig KA (2004) Corticohippocampal contributions to spatial and contextual learning. *Journal of Neuroscience* 24: 3826-3836.

Bussey TJ, Everitt BJ, Robbins TW (1997) Dissociable effects of cingulate and medial frontal cortex lesions on stimulus-reward learning using a novel Pavlovian autoshaping procedure for the rat: Implications for the neurobiology of emotion. *Behavioral Neuroscience* 111: 908-919.

## **C -**

Calandreau L, Desmedt A, Decorte L, Jaffard R (2005) A different recruitment of the lateral and basolateral amygdala promotes contextual or elemental conditioned association in Pavlovian fear conditioning. *Learning & Memory* 12: 383-388.

- Calandreau L, Jaffard R, Desmedt A (2007) Dissociated roles for the lateral and medial septum in elemental and contextual fear conditioning. *Learning & Memory* 14: 422-429.
- 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 Research Bulletin* 40: 245-251.
- Campeau S, Davis M (1995) Involvement of the central nucleus and basolateral complex of the amygdala in fear conditioning measured with fear-potentiated startle in rats trained concurrently with auditory and visual conditioned-stimuli. *Journal of Neuroscience* 15: 2301-2311.
- Campeau S, Falls WA, Cullinan WE, Helmreich DL, Davis M, Watson SJ (1997) Elicitation and reduction of fear: Behavioural and neuroendocrine indices and brain induction of the immediate-early gene c-fos. *Neuroscience* 78: 1087-1104.
- Cardinal RN, Parkinson JA, Marbini HD, Toner AJ, Bussey TJ, Robbins TW, Everitt BJ (2003) Role of the anterior cingulate cortex in the control over behavior by Pavlovian conditioned stimuli in rats. *Behavioral Neuroscience* 117: 566-587.
- Carobrez AP, Bertoglio LJ (2005) Ethological and temporal analyses of anxiety-like behavior: The elevated plus-maze model 20 years on. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 29: 1193-1205.
- Carr MF, Jadhav SP, Frank LM (2011) Hippocampal replay in the awake state: a potential substrate for memory consolidation and retrieval. *Nature Neuroscience* 14: 147-153.
- Carrive P (1993) The periaqueductal gray and defensive behavior - Functional representation and neuronal organization. *Behavioural Brain Research* 58: 27-47.
- Carrive P, Leung P, Harris J, Paxinos G (1997) Conditioned fear to context is associated with increased fos expression in the caudal ventrolateral region of the midbrain periaqueductal gray. *Neuroscience* 78: 165-177.
- Chan KH, Morell JR, Jarrard LE, Davidson TL (2001) Reconsideration of the role of the hippocampus in learned inhibition. *Behavioural Brain Research* 119: 111-130.
- Christakou A, Robbins TW, Everitt BJ (2001) Functional disconnection of a prefrontal cortical-dorsal striatal system disrupts choice reaction time performance: Implications for attentional function. *Behavioral Neuroscience* 115: 812-825.
- Chudasama Y, Muir JL (2001) Visual attention in the rat: A role for the prelimbic cortex and thalamic nuclei? *Behavioral Neuroscience* 115: 417-428.
- Cipolotti L, Shallice T, Chan D, Fox N, Scahill R, Harrison G, Stevens J, Rudge P (2001) Long-term retrograde amnesia ... the crucial role of the hippocampus. *Neuropsychologia* 39: 151-172.
- Clark RE, Broadbent NJ, Squire LR (2005) Hippocampus and remote spatial memory in rats. *Hippocampus* 15: 260-272.

Clark RE, Broadbent NJ, Zola SM, Squire LR (2002) Anterograde amnesia and temporally graded retrograde amnesia for a nonspatial memory task after lesions of hippocampus and subiculum. *Journal of Neuroscience* 22: 4663-4669.

Cohen NJ, Squire LR (1980) Preserved learning and retention of pattern-analyzing skill in amnesia: dissociation of knowing how and knowing that. *Science* 210: 207-210.

Collins DR, Pare D (2000) Differential fear conditioning induces reciprocal changes in the sensory responses of lateral amygdala neurons to the CS+ and CS-. *Learning & Memory* 7: 97-103.

Corcoran KA, Quirk GJ (2007) Activity in prelimbic cortex is necessary for the expression of learned, but not innate, fears. *Journal of Neuroscience* 27: 840-844.

Corkin S (1984) Lasting Consequences of Bilateral Medial Temporal Lobectomy - Clinical Course and Experimental Findings in Hm. *Seminars in Neurology* 4: 249-259.

Costanzi M, Cannas S, Sarauili D, Rossi-Arnaud C, Cestari V (2011) Extinction after retrieval: Effects on the associative and nonassociative components of remote contextual fear memory. *Learning & Memory* 18: 508-518.

Cruz APM, Frei F, Graeff FG (1994) Ethopharmacological analysis of rat behavior on the elevated plus-maze. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 49: 171-176.

## **D -**

Daumas S, Halley H, Frances B, Lassalle JM (2005) Encoding, consolidation, and retrieval of contextual memory: Differential involvement of dorsal CA3 and CA1 hippocampal subregions. *Learning & Memory* 12: 375-382.

Davis M (1997) Neurobiology of fear responses: The role of the amygdala. *Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences* 9: 382-402.

Daviu N, Fuentes S, Nadal R, Armario A (2010) A single footshock causes long-lasting hypoactivity in unknown environments that is dependent on the development of contextual fear conditioning. *Neurobiology of Learning and Memory* 94: 183-190.

Day HEW, Kryskow EM, Nyhuis TJ, Herlihy L, Campeau S (2008) Conditioned fear inhibits c-fos mRNA expression in the central extended amygdala. *Brain Research* 1229: 137-146.

De Oca BM, Decola JP, Maren S, Fanselow MS (1998) Distinct regions of the periaqueductal gray are involved in the acquisition and expression of defensive responses. *Journal of Neuroscience* 18: 3426-3432.

Deacon RMJ, Bannerman DM, Rawlins JNP (2002) Anxiolytic effects of cytotoxic hippocampal lesions in rats. *Behavioral Neuroscience* 116: 494-497.

- Debruin JPC, Sanchezsanted F, Heinsbroek RPW, Donker A, Postmes P (1994) A behavioral-analysis of rats with damage to the medial prefrontal cortex using the Morris water maze - Evidence for behavioral flexibility, but not for impaired spatial navigation. *Brain Research* 652: 323-333.
- Dedovic K, Duchesne A, Andrews J, Engert V, Pruessner JC (2009) The brain and the stress axis: The neural correlates of cortisol regulation in response to stress. *Neuroimage* 47: 864-871.
- Delamater AR (2004) Experimental extinction in Pavlovian conditioning: Behavioural and neuroscience perspectives. *Quarterly Journal of Experimental Psychology Section B-Comparative and Physiological Psychology* 57: 97-132.
- Delatour B, Gisquet-Verrier P (2001) Involvement of the dorsal anterior cingulate cortex in temporal behavioral sequencing: subregional analysis of the medial prefrontal cortex in rat. *Behavioural Brain Research* 126: 105-114.
- De Paula Soares V, Vicente MA, Biojone C, Zangrossi H, Guimaraes FS, Joca SRL (2011) Distinct behavioral consequences of stress models of depression in the elevated T-maze. *Behavioural Brain Research* 225: 590-595.
- Desmedt A, Garcia R, Jaffard R (1998) Differential modulation of changes in hippocampal-septal synaptic excitability by the amygdala as a function of either elemental or contextual fear conditioning in mice. *Journal of Neuroscience* 18: 480-487.
- Desmedt A, Garcia R, Jaffard R (1999) Vasopressin in the lateral septum promotes elemental conditioning to the detriment of contextual fear conditioning in mice. *European Journal of Neuroscience* 11: 3913-3921.
- Doron NN, Ledoux JE (2000a) Organization of projections to the lateral amygdala from auditory and visual areas of the thalamus in the rat (vol 412, pg 383, 1999). *Journal of Comparative Neurology* 417: 385-386.
- Doron NN, Ledoux JE (2000b) Cells in the posterior thalamus project to both amygdala and temporal cortex: A quantitative retrograde double-labeling study in the rat. *Journal of Comparative Neurology* 425: 257-274.
- Douville K, Woodard JL, Seidenberg M, Miller SK, Leveroni CL, Nielson KA, Franczak M, Antuono P, Rao SA (2005) Medial temporal lobe activity for recognition of recent and remote famous names: an event-related fMRI study. *Neuropsychologia* 43: 693-703.
- Dudai Y (2004) The neurobiology of consolidations, or, how stable is the engram? *Annual Review of Psychology* 55: 51-86.
- Dudai, Y. and Morris, R. G. (2000). To consolidate or not to consolidate: What are the questions? *Brain, perception, memory*. pp. 149-162.
- Duvarci S, Bauer EP, Pare D (2009) The bed nucleus of the stria terminalis mediates inter-individual variations in anxiety and fear. *Journal of Neuroscience* 29: 10357-10361.

**E -**

Easton A, Zinkivskay A, Eacott MJ (2009) Recollection is impaired, but familiarity remains intact in rats with lesions of the fornix. *Hippocampus* 19: 837-843.

Eichenbaum H, Fortin NJ (2009) The neurobiology of memory based predictions. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences* 364: 1183-1191.

Eichenbaum H, Yonelinas AP, Ranganath C (2007) The medial temporal lobe and recognition memory. *Annual Review of Neuroscience* 30: 123-152.

Ekstrom AD, Kahana MJ, Caplan JB, Fields TA, Isham EA, Newman EL, Fried I (2003) Cellular networks underlying human spatial navigation. *Nature* 425: 184-187.

**F -**

Fanselow MS (1984) What is conditioned fear. *Trends in Neurosciences* 7: 460-462.

Fanselow MS (1986) Associative vs topographical accounts of the immediate shock freezing deficit in rats - implications for the response selection-rules governing species-specific defensive reactions. *Learning and Motivation* 17: 16-39.

Fanselow MS (1990) Factors governing one-trial contextual conditioning. *Animal Learning & Behavior* 18: 264-270.

Fanselow MS (2000) Contextual fear, gestalt memories, and the hippocampus. *Behavioural Brain Research* 110: 73-81.

Fanselow MS (2009) From contextual fear to a dynamic view of memory systems. *Trends in Cognitive Neurosciences* 14:7-15.

Fendt M, Fanselow MS (1999) The neuroanatomical and neurochemical basis of conditioned fear. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 23: 743-760.

Ferreira TL, Shammah-Lagnado SJ, Blieno OFA, Moreira KM, Fornari RV, Oliveira MGM (2008) The indirect amygdala-dorsal striatum pathway mediates conditioned freezing: Insights on emotional memory networks. *Neuroscience* 153: 84-94.

Frankland PW, Bontempi B (2005) The organization of recent and remote memories. *Nature Reviews Neuroscience* 6: 119-130.

Frankland PW, Bontempi B, Talton LE, Kaczmarek L, Silva AJ (2004) The involvement of the anterior cingulate cortex in remote contextual fear memory. *Science* 304: 881-883.

Frankland PW, Cestari V, Filipkowski RK, McDonald RJ, Silva AJ (1998) The dorsal hippocampus is essential for context discrimination but not for contextual conditioning. *Behavioral Neuroscience* 112: 863-874.

Frankland PW, Ding HK, Takahashi E, Suzuki A, Kida S, Silva AJ (2006) Stability of recent and remote contextual fear memory. *Learning & Memory* 13: 451-457.

Frankland PW, Teixeira CM (2005) A pain in the ACC. *Molecular Pain* 1:14.

Furlong TM, Cole S, Hamlin AS, McNally GP (2010) The role of prefrontal cortex in predictive fear learning. *Behavioral Neuroscience* 124: 574-586.

## **G -**

Gabbott PLA, Warner TA, Jays PRL, Salway P, Busby SJ (2005) Prefrontal cortex in the rat: Projections to subcortical autonomic, motor, and limbic centers. *Journal of Comparative Neurology* 492: 145-177.

Gadian DG, Aicardi J, Watkins KE, Porter DA, Mishkin M, Vargha-Khadem F (2000) Developmental amnesia associated with early hypoxic-ischaemic injury. *Brain* 123: 499-507.

Gaffan D, Gaffan EA (1991) Amnesia in man following transection of the fornix - A review. *Brain* 114: 2611-2618.

Gale GD, Anagnostaras SG, Godsil BP, Mitchell S, Nozawa T, Sage JR, Wiltgen B, Fanselow MS (2004) Role of the basolateral amygdala in the storage of fear memories across the adult lifetime of rats. *Journal of Neuroscience* 24: 3810-3815.

Gao J, Wu XY, Owyang C, Li Y (2004) Vagal afferent modulation of the anterior cingulate cortex activated by colorectal distension is mediated by vagal A fibers containing GABA. *Gastroenterology* 126: A559.

Garcia R, Tocco G, Baudry M, Thompson RF (1998) Exposure to a conditioned aversive environment interferes with long-term potentiation induction in the fimbria-CA3 pathway. *Neuroscience* 82: 139-145.

Gentile CG, Jarrell TW, Teich A, McCabe PM, Schneiderman N (1986) The role of amygdaloid central nucleus in the retention of differential pavlovian conditioning of bradycardia in rabbits. *Behavioural Brain Research* 20: 263-273.

Gewirtz JC, McNish KA, Davis M (1998) Lesions of the bed nucleus of the stria terminalis block sensitization of the acoustic startle reflex produced by repeated stress, but not fear-potentiated startle. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry* 22: 625-648.

Gilboa A, Winocur G, Rosenbaum RS, Poreh A, Gao FQ, Black SE, Westmacott R, Moscovitch M (2006) Hippocampal contributions to recollection in retrograde and anterograde amnesia. *Hippocampus* 16: 966-980.

Gilmartin MR, McEchron MD (2005) Single neurons in the medial prefrontal cortex of the rat exhibit tonic and phasic coding during trace fear conditioning. *Behavioral Neuroscience* 119: 1496-1510.

Golub Y, Mauch CP, Dahlhoff M, Wotjak CT (2009) Consequences of extinction training on associative and non-associative fear in a mouse model of Posttraumatic Stress Disorder (PTSD). *Behavioural Brain Research* 205: 544-549.

Goshen I, Brodsky M, Prakash R, Wallace J, Gradinaru V, Ramakrishnan C, Deisseroth K (2011) Dynamics of Retrieval Strategies for Remote Memories. *Cell* 147: 1197.

Graf P, Schacter DL (1985) Implicit and explicit memory for new associations in normal and amnesic subjects. *Journal of Experimental Psychology-Learning Memory and Cognition* 11: 501-518.

Gray JA, McNaughton N (2000) Neural anxiety systems: Relevant fault-lines to trace and treat disorders. *European Journal of Neuroscience* 12: 311.

Grillon C, Baas JP, Lissek S, Smith K, Milstein J (2004) Anxious responses to predictable and unpredictable aversive events. *Behavioral Neuroscience* 118: 916-924.

Grillon C, Pine DS, Lissek S, Rabin S, Bonne O, Vythilingam M (2009) Increased anxiety during anticipation of unpredictable aversive stimuli in posttraumatic stress disorder but not in generalized anxiety disorder. *Biological Psychiatry* 66: 47-53.

Groenewegen HJ, Berendse HW (1994) The specificity of the nonspecific midline and intralaminar thalamic nuclei. *Trends in Neurosciences* 17: 52-57.

Guimaraes M, Gregorio A, Cruz A, Guyon N, Moita MA (2011) Time determines the neural circuit underlying associative fear learning. *Frontiers in Behavioral Neuroscience* 5.

Gusev PA, Cui C, Alkon DL, Gubin AN (2005) Topography of Arc/Arg3.1 mRNA expression in the dorsal and ventral hippocampus induced by recent and remote spatial memory recall: Dissociation of CA3 and CA1 activation. *Journal of Neuroscience* 25: 9384-9397.

## **H -**

Haist F, Gore JB, Mao H (2001) Consolidation of human memory over decades revealed by functional magnetic resonance imaging. *Nature Neuroscience* 4: 1139-1145.

Hall G, Honey RC (1990) Context-specific conditioning in the conditioned-emotional-response procedure. *Journal of Experimental Psychology-Animal Behavior Processes* 16: 271-278.

Hall J, Thomas KL, Everitt BJ (2001) Cellular imaging of zif268 expression in the hippocampus and amygdala during contextual and cued fear memory retrieval: Selective activation of hippocampal CA1 neurons during the recall of contextual memories. *Journal of Neuroscience* 21: 2186-2193.

Hammack SE, Richey KJ, Watkins LR, Maier SF (2004) Chemical lesion of the bed nucleus of the stria terminalis blocks the behavioral consequences of uncontrollable stress. *Behavioral Neuroscience* 118: 443-448.

- Han CJ, O'Tuathaigh CM, van Trigt L, Quinn JJ, Fanselow MS, Mongeau R, Koch C, Anderson DJ (2003) Trace but not delay fear conditioning requires attention and the anterior cingulate cortex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100: 13087-13092.
- Harris JA, Jones ML, Bailey GK, Westbrook RF (2000) Contextual control over conditioned responding in an extinction paradigm. *Journal of Experimental Psychology-Animal Behavior Processes* 26: 174-185.
- Hebb D (1949) *The organization of behaviour*.
- Heidbreder CA, Groenewegen HJ (2003) The medial prefrontal cortex in the rat: evidence for a dorso-ventral distinction based upon functional and anatomical characteristics. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 27: 555-579.
- Henke PG (1990) Granule cell potentials in the dentate gyrus of the hippocampus - Coping behavior and stress-ulcers in rats. *Behavioural Brain Research* 36: 97-103.
- 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 Research Reviews* 28: 370-490.
- Herry C, Trifilieff P, Micheau J, Luthi A, Mons N (2006) Extinction of auditory fear conditioning requires MAPK/ERK activation in the basolateral amygdala. *European Journal of Neuroscience* 24: 261-269.
- Hitchcock J, Davis M (1986) Lesions of the amygdala, but not of the cerebellum or red nucleus, block conditioned fear as measured with the potentiated startle paradigm. *Behavioral Neuroscience* 100: 11-22.
- Houston FP, Stevenson GD, Mcnaughton BL, Barnes CA (1999) Effects of age on the generalization and incubation of memory in the F344 rat. *Learning & Memory* 6: 111-119.
- Huff NC, Frank M, Wright-Hardesty K, Sprunger D, Matus-Amat P, Higgins E, Rudy JW (2006) Amygdala regulation of immediate-early gene expression in the hippocampus induced by contextual fear conditioning. *Journal of Neuroscience* 26: 1616-1623.
- Hughes P, Dragunow M (1995) Induction of immediate-early genes and the control of neurotransmitter-regulated gene expression within the nervous system. *Pharmacological Review* 47:133-78.
- Hunsaker MR, Kesner RP (2008) Dissociations across the dorsal-ventral axis of CA3 and CA1 for encoding and retrieval of contextual and auditory-cued fear. *Neurobiology of Learning and Memory* 89: 61-69.
- Hurley KM, Herbert H, Moga MM, Saper CB (1991) Efferent Projections of the Infralimbic Cortex of the Rat. *Journal of Comparative Neurology* 308: 249-276.

**I -**

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.

**J -**

Jacobson L, Sapolsky R (1991) The role of the hippocampus in feedback-regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis. *Endocrine Reviews* 12: 118-134.

James W (1890) *Principles of psychology*.

Jay TM, Burette F, Laroche S (1996) Plasticity of the hippocampal-prefrontal cortex synapses. *Journal of Physiology-Paris* 90: 361-366.

Jenkins TA, Amin E, Pearce JM, Brown MW, Aggleton JP (2004) Novel spatial arrangements of familiar visual stimuli promote activity in the rat hippocampal formation but not the parahippocampal cortices: A c-fos expression study. *Neuroscience* 124: 43-52.

Ji JZ, Maren S (2008) Differential roles for hippocampal areas CA1 and CA3 in the contextual encoding and retrieval of extinguished fear. *Learning & Memory* 15: 244-251.

Johansen JP, Fields HL, Manning BH (2001) The affective component of pain in rodents: Direct evidence for a contribution of the anterior cingulate cortex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 98: 8077-8082.

**K -**

Kamin, LJ (1969). Predictability, surprise, attention, and conditioning. In B. A. Campbell and R. M. Church (Eds.) *Punishment and Aversive Behavior*. New York: Appleton-Century-Crofts (Pages 279-296).

Kamprath K, Wotjak CT (2004) Nonassociative learning processes determine expression and extinction of conditioned fear in mice. *Learning & Memory* 11: 770-786.

Kanari K, Kikusui T, Takeuchi Y, Mori Y (2005) Multidimensional structure of anxiety-related behavior in early-weaned rats. *Behavioural Brain Research* 156: 45-52.

Kapp BS, Frysinger RC, Gallagher M, Haselton JR (1979) Amygdala central nucleus lesions - effect on heart-rate conditioning in the rabbit. *Physiology & Behavior* 23: 1109-1117.

Kartsounis LD, Rudge P, Stevens JM (1995) Bilateral lesions of CA1 and CA2 fields of the hippocampus are sufficient to cause a severe amnesic syndrome in humans. *Journal of Neurology Neurosurgery and Psychiatry* 59: 95-98.

- Kesner RP (2000) Subregional analysis of mnemonic functions of the prefrontal cortex in the rat. *Psychobiology* 28: 219-228.
- Kesner RP (2007) Behavioral functions of the CA3 subregion of the hippocampus. *Learning and Memory* 14: 771-781.
- Kessels RPC, de Haan EHF, Kappelle LJ, Postma A (2001) Varieties of human spatial memory: a meta-analysis on the effects of hippocampal lesions. *Brain Research Reviews* 35: 295-303.
- Kim JJ, Fanselow MS (1992) Modality-specific retrograde-amnesia of fear. *Science* 256: 675-677.
- Kim JJ, Jung MW (2006) Neural circuits and mechanisms involved in Pavlovian fear conditioning: A critical review. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 30: 188-202.
- Kim JJ, Rison RA, Fanselow MS (1993) Effects of amygdala, hippocampus, and periaqueductal gray lesions on short-term and long-term contextual fear. *Behavioral Neuroscience* 107: 1093-1098.
- Kirwan CB, Bayle PJ, Galvan VV, Squire LR (2008) Detailed recollection of remote autobiographical memory after damage to the medial temporal lobe. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105: 2676-2680.
- Kjelstrup KB, Solstad T, Brun VH, Hafting T, Leutgeb S, Witter MP, Moser EI, Moser MB (2008) Finite scale of spatial representation in the hippocampus. *Science* 321: 140-143.
- Kjelstrup KG, Tuvnes FA, Steffenach HA, Murison R, Moser EI, Moser MB (2002) Reduced fear expression after lesions of the ventral hippocampus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99: 10825-10830.
- Klüver H, Bucy PC (1939) Preliminary analysis of functions of the temporal lobes in monkeys. *Archives of Neurology and Psychiatry* 42: 979-1000
- Kogan I, Richter-Levin G (2008) Activation pattern of the limbic system following spatial learning under stress. *European Journal of Neuroscience* 27: 715-722.
- Korte SM, De Boer SF (2003) A robust animal model of state anxiety: fear-potentiated behaviour in the elevated plus-maze. *European Journal of Pharmacology* 463: 163-175.
- Krout KE, Loewy AD (2000) Periaqueductal gray matter projections to midline and intralaminar thalamic nuclei of the rat. *Journal of Comparative Neurology* 424: 111-141.
- Kung JC, Su NM, Fan RJ, Chai SC, Shyu BC (2003) Contribution of the anterior cingulate cortex to laser-pain conditioning in rats. *Brain Research* 970: 58-72.

**L -**

Laroche S, Davis S, Jay TM (2000) Plasticity at hippocampal to prefrontal cortex synapses: Dual roles in working memory and consolidation. *Hippocampus* 10: 438-446.

Laurent V, Marchand AR, Westbrook RF (2008) The basolateral amygdala is necessary for learning but not relearning extinction of context conditioned fear. *Learning & Memory* 15: 304-314.

Laurent V, Westbrook RF (2009) Inactivation of the infralimbic but not the prelimbic cortex impairs consolidation and retrieval of fear extinction. *Learning & Memory* 16: 520-529.

Lecourtier L, de Vasconcelos AP, Leroux E, Cosquer B, Geiger K, Lithfous S, Cassel JC (2011) Septohippocampal pathways contribute to system consolidation of a spatial memory: Sequential implication of gabaergic and cholinergic neurons. *Hippocampus* 21: 1277-1289.

Ledoux J (1996) Emotional networks and motor control: A fearful view. *Emotional Motor System* 107: 437-446.

Ledoux JE (2000) Emotion circuits in the brain. *Annual Review of Neuroscience* 23: 155-184.

Ledoux JE, Farb CR, Milner TA (1991) Ultrastructure and synaptic associations of auditory thalamo-amygdala projections in the rat. *Experimental Brain Research* 85: 577-586.

Ledoux JE, Sakaguchi A, Iwata J, Reis DJ (1986) Interruption of projections from the medial geniculate-body to an archi-neostriatal field disrupts the classical-conditioning of emotional responses to acoustic stimuli. *Neuroscience* 17: 615-627.

Lee I, Kesner RP (2004) Encoding versus retrieval of spatial memory: Double dissociation between the dentate gyrus and the perforant path inputs into CA3 in the dorsal hippocampus. *Hippocampus* 14: 66-76.

Lee YL, Davis M (1997) Role of the hippocampus, the bed nucleus of the stria terminalis, and the amygdala in the excitatory effect of corticotropin-releasing hormone on the acoustic startle reflex. *Journal of Neuroscience* 17: 6434-6446.

Lee I, Kesner RP (2004) Differential contributions of dorsal hippocampal subregions to memory acquisition and retrieval in contextual fear-conditioning. *Hippocampus* 14: 301-310.

Lehmann H, Lacanilao S, Sutherland RJ (2007) Complete or partial hippocampal damage produces equivalent retrograde amnesia for remote contextual fear memories. *European Journal of Neuroscience* 25: 1278-1286.

Lehmann H, Sparks FT, Spanswick SC, Hadikin C, McDonald RJ, Sutherland RJ (2009) Making context memories independent of the hippocampus. *Learning & Memory* 16: 417-420.

Likhtik E, Popa D, Apergis-Schoute J, Fidacaro GA, Pare D (2008) Amygdala intercalated neurons are required for expression of fear extinction. *Nature* 454: 642-U48.

Linke R, Braune G, Schwegler H (2000) Differential projection of the posterior paralaminar thalamic nuclei to the amygdaloid complex in the rat. *Experimental Brain Research* 134: 520-532.

Lissek S (2012) Toward an account of clinical anxiety predicated on basic, neurally mapped mechanisms of Pavlovian fear-learning: the case for conditioned overgeneralization. *depression and anxiety* 29: 257-263.

Lissek S, Biggs AL, Rabin SJ, Cornwell BR, Alvarez RP, Pine DS, Grillon C (2008) Generalization of conditioned fear-potentiated startle in humans: Experimental validation and clinical relevance. *Behaviour Research and Therapy* 46: 678-687.

Lissek S, Rabin S, Heller RE, Lukenbaugh D, Geraci M, Pine DS, Grillon C (2010) Overgeneralization of conditioned fear as a pathogenic marker of panic disorder. *American Journal of Psychiatry* 167: 47-55.

Luyten L, van Kuyck K, Vansteenwegen D, Nuttin B (2011a) Electrolytic lesions of the bed nucleus of the stria terminalis disrupt freezing and startle potentiation in a conditioned context. *Behavioural Brain Research* 222: 357-362.

Luyten L, Vansteenwegen D, van Kuyck K, Gabriels L, Nuttin B (2011b) Contextual conditioning in rats as an animal model for generalized anxiety disorder. *Cognitive Affective & Behavioral Neuroscience* 11: 228-244.

Luyten L, Vansteenwegen D, van Kuyck K, Nuttin B (2011c) Towards chronic contextual conditioning in rats: The effects of different numbers of unpaired tone-shock presentations on freezing time and startle. *Acta Neurobiologiae Experimentalis* 71: 331-338.

## **M -**

Mackintosh NJ (1976) Overshadowing and Stimulus-Intensity. *Animal Learning & Behavior* 4: 186-192.

Maguire EA, Henson RNA, Mummery CJ, Frith CD (2001) Activity in prefrontal cortex, not hippocampus, varies parametrically with the increasing remoteness of memories. *Neuroreport* 12: 441-444.

Majchrzak M, Ferry B, Marchand AR, Herbeaux K, Seillier A, Barbelivien A (2006) Entorhinal cortex lesions disrupt fear conditioning to background context but spare fear conditioning to a tone in the rat. *Hippocampus* 16: 114-124.

Malin EL, McGaugh JL (2006) Differential involvement of the hippocampus, anterior cingulate cortex, and basolateral amygdala in memory for context and footshock. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103: 1959-1963.

- Marchand AR, Barbelivien A, Seillier A, Herbeaux K, Sarrieau A, Majchrzak M (2007) Contribution of corticosterone to cued versus contextual fear in rats. *Behavioural Brain Research* 183: 101-110.
- Marchand AR, Luck D, DiScala G (2003) Evaluation of an improved automated analysis of freezing behaviour in rats and its use in trace fear conditioning. *Journal of Neuroscience Methods* 126: 145-153.
- Maren S (2001) Neurobiology of Pavlovian fear conditioning. *Annual Review of Neuroscience* 24: 897-931.
- Maren S, Aharonov G, Fanselow MS (1996) Retrograde abolition of conditional fear after excitotoxic lesions in the basolateral amygdala of rats: Absence of a temporal gradient. *Behavioral Neuroscience* 110: 718-726.
- Maren S, Aharonov G, Fanselow MS (1997) Neurotoxic lesions of the dorsal hippocampus and Pavlovian fear conditioning in rats. *Behavioural Brain Research* 88: 261-274.
- Maren S, Fanselow MS (1997) Electrolytic lesions of the fimbria/fornix, dorsal hippocampus, or entorhinal cortex produce anterograde deficits in contextual fear conditioning in rats. *Neurobiology of Learning and Memory* 67: 142-149.
- Maren S, Holt WG (2004) Hippocampus and Pavlovian fear conditioning in rats: Muscimol infusions into the ventral, but not dorsal, hippocampus impair the acquisition of conditional freezing to an auditory conditional stimulus. *Behavioral Neuroscience* 118: 97-110.
- Marr D (1971) Simple memory: a theory for archicortex. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London-B Biological Sciences* 262: 23-81.
- Marslen-Wilson WD, Teuber HL (1975) Memory for remote events in anterograde amnesia: recognition of public figures from newsphotographs. *Neuropsychologia* 13: 353-364.
- Marti O, Garcia A, Valles A, Harbuz MS, Armario A (2001) Evidence that a single exposure to aversive stimuli triggers long-lasting effects in the hypothalamus-pituitary-adrenal axis that consolidate with time. *European Journal of Neuroscience* 13: 129-136.
- Martin SJ, de Hoz L, Morris RGM (2005) Retrograde amnesia: neither partial nor complete hippocampal lesions in rats result in preferential sparing of remote spatial memory, even after reminding. *Neuropsychologia* 43: 609-624.
- Mascagni F, McDonald AJ, Coleman JR (1993) Corticoamygdaloid and corticocortical projections of the rat temporal cortex - A phaseolus-vulgaris-leukoagglutinin study. *Neuroscience* 57: 697-715.
- Matus-Amat P, Higgins EA, Barrientos RM, Rudy JW (2004) The role of the dorsal hippocampus in the acquisition and retrieval of context memory representations. *Journal of Neuroscience* 24: 2431-2439.

- Matus-Amat P, Higgins EA, Sprunger D, Wright-Hardesty K, Rudy JW (2007) The role of dorsal hippocampus and basolateral amygdala NMDA receptors in the acquisition and retrieval of context and contextual fear memories. *Behavioral Neuroscience* 121: 721-731.
- Maviel T, Durkin TP, Menzaghi F, Bontempi B (2004) Sites of neocortical reorganization critical for remote spatial memory. *Science* 305: 96-99.
- McClelland JL, McNaughton BL, O'Reilly RC (1995) Why there are complementary learning-systems in the hippocampus and neocortex - Insights from the successes and failures of connectionist models of learning and memory. *Psychological Review* 102: 419-457.
- McConnell BL, Urushihara K, Miller RR (2010) Contrasting predictions of extended comparator hypothesis and acquisition-focused models of learning concerning retrospective reevaluation. *Journal of Experimental Psychology-Animal Behavioral Processes* 36: 137-147.
- 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.
- McDonald AJ, Shammah-Lagnado SJ, Shi CJ, Davis M (1999) Cortical afferents to the extended amygdala. *Annals of the New York Academy of Science* 877: 309-338.
- McGaugh JL (2006) Make mild moments memorable: add a little arousal. *Trends in Cognitive Sciences* 10: 345-347.
- McKenzie S, Eichenbaum H (2012) New approach illuminates how memory systems switch. *Trends in Cognitive Sciences* 16: 102-103.
- McMackin D, Cockburn J, Anslow P, Gaffan D (1995) Correlation of Fornix Damage with Memory Impairment in 6 Cases of Colloid Cyst Removal. *Acta Neurochirurgica* 135: 12-18.
- McNaughton N, Corr PJ (2004) A two-dimensional neuropsychology of defense: fear/anxiety and defensive distance. *Neuroscience and Biobehavioral Review* 28:285-305.
- McNaughton N, Morris RG (1987) Chlordiazepoxide, an anxiolytic benzodiazepine, impairs place navigation in rats. *Behavioral Brain Research* 24: 39-46.
- McNaughton, B. L. and Nadel, L., (1990), Hebb-Marr networks and the neurobiological representation of action in space, in: *Neuroscience and Connectionist Theory*, (M. A. Gluck and D. E. Rumelhart, Eds.), Hillsdale NJ: Lawrence Erlbaum Assoc. pp. 1-63
- Milad MR, Quirk GJ (2002) Neurons in medial prefrontal cortex signal memory for fear extinction. *Nature* 420: 70-74.
- Milad MR, Vidal-Gonzalez I, Quirk GJ (2004) Electrical stimulation of medial prefrontal cortex reduces conditioned fear in a temporally specific manner. *Behavioral Neuroscience* 118: 389-394.
- Milanovic S, Radulovic J, Laban O, Stiedl O, Henn F, Spiess J (1998) Production of the Fos protein after contextual fear conditioning of C57BL/6N mice. *Brain Research* 784: 37-47.

- Montgomery KC (1955) The relation between fear induced by novel stimulation and exploratory behavior. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 48: 264–280.
- Morgan MA, Romanski LM, Ledoux JE (1993) Extinction of emotional learning - Contribution of medial prefrontal cortex. *Neuroscience Letters* 163: 109-113.
- Morgan MA, Schulkin J, Ledoux JE (2003) Ventral medial prefrontal cortex and emotional perseveration: the memory for prior extinction training. *Behavioural Brain Research* 146: 121-130.
- Morris RGM (1982) New Approaches to Learning and Memory. *Trends in Neurosciences* 5: 3-4.
- Moscovitch M, Nadel L, Winocur G, Gilboa A, Rosenbaum RS (2006) The cognitive neuroscience of remote episodic, semantic and spatial memory. *Current Opinion in Neurobiology* 16: 179-190.
- Moscovitch M, Rosenbaum RS, Gilboa A, Addis DR, Westmacott R, Grady C, McAndrews MP, Levine B, Black S, Winocur G, Nadel L (2005) Functional neuroanatomy of remote episodic, semantic and spatial memory: a unified account based on multiple trace theory. *Journal of Anatomy* 207: 35-66.
- Moser MB, Moser EI (1998) Distributed encoding and retrieval of spatial memory in the hippocampus. *Journal of Neuroscience* 18: 7535-7542.
- Moser MB, Moser EI, Forrest E, Andersen P, Morris RGM (1995) Spatial-learning with a minislab in the dorsal hippocampus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 92: 9697-9701.
- Moses SN, Winocur G, Ryan JD, Moscovitch M (2007) Environmental complexity affects contextual fear conditioning following hippocampal lesions in rats. *Hippocampus* 17: 333-337.
- Muir JL, Everitt BJ, Robbins TW (1996) The cerebral cortex of the rat and visual attentional function: Dissociable effects of mediofrontal, cingulate, anterior dorsolateral, and parietal cortex lesions on a five-choice serial reaction time task. *Cerebral Cortex* 6: 470-481.
- Muller R (1996) A quarter of a century of place cells. *Neuron* 17: 813-822.
- Muller J, Corodimas KP, Fridel Z, Ledoux JE (1997) Functional inactivation of the lateral and basal nuclei of the amygdala by muscimol infusion prevents fear conditioning to an explicit conditioned stimulus and to contextual stimuli. *Behavioral Neuroscience* 111: 683-691.
- Myers KM, Davis M (2002) Behavioral and neural analysis of extinction. *Neuron* 36: 567-584.

**N -**

Naber PA, Witter MP (1998) Subicular efferents are organized mostly as parallel projections: A double-labeling, retrograde-tracing study in the rat. *Journal of Comparative Neurology* 393: 284-297.

Nadel L, Campbell J, Ryan L (2007) Autobiographical memory retrieval and hippocampal activation as a function of repetition and the passage of time. *Neural Plasticity* 2007: 90472.

Nadel L, Moscovitch M (1997) Memory consolidation, retrograde amnesia and the hippocampal complex. *Current Opinion in Neurobiology* 7: 217-227.

Nadel L, Samsonovich A, Ryan L, Moscovitch M (2000) Multiple trace theory of human memory: Computational, neuroimaging, and neuropsychological results. *Hippocampus* 10: 352-368.

Nadel L, Willner J (1980) Context and Conditioning - A Place for Space. *Physiological Psychology* 8: 218-228.

Nader K, Majidishad P, Amorapanth P, Ledoux JE (2001) Damage to the lateral and central, but not other, amygdaloid nuclei prevents the acquisition of auditory fear conditioning. *Learning & Memory* 8: 156-163.

Neugebauer V, Li WD (2002) Processing of nociceptive mechanical and thermal information in central amygdala neurons with knee-joint input. *Journal of Neurophysiology* 87: 103-112.

Ng CW, Noblejas MI, Rodefer JS, Smith CB, Poremba A (2007) Double dissociation of attentional resources: Prefrontal versus Cingulate cortices. *Journal of Neuroscience* 27: 12123-12131.

Niki K, Luo J (2002) An fMRI study on the time-limited role of the medial temporal lobe in long-term topographical autobiographic memory. *Journal of Cognitive Neuroscience* 14: 500-507.

Norman G, Eacott MJ (2005) Dissociable effects of lesions to the perirhinal cortex and the postrhinal cortex on memory for context and objects in rats. *Behavioral Neuroscience* 119: 557-566.

**O -**

O'Keefe J, Dostrovsky J (1971) The hippocampus as a spatial map. Preliminary evidence from unit activity in the freely-moving rat. *Brain Res* 34: 171-175.

O'Keefe, J. and Nadel, L. (1978). *The hippocampus as a cognitive map*.

O'Reilly RC, Rudy JW (2001) Conjunctive representations in learning and memory: Principles of cortical and hippocampal function. *Psychological Review* 108: 311-345.

Oliveira LC, Nobre MJ, Brandao ML, Landeira-Fernandez J (2004) Role of amygdala in conditioned and unconditioned fear generated in the periaqueductal gray. *Neuroreport* 15: 2281-2285.

Olton DS, Werz MA (1978) Hippocampal Function and Behavior - Spatial Discrimination and Response Inhibition. *Physiology & Behavior* 20: 597-605.

## **P -**

Pace TWW, Gaylord R, Topczewski F, Girotti M, Rubin B, Spencer RL (2005) Immediate-early gene induction in hippocampus and cortex as a result of novel experience is not directly related to the stressfulness of that experience. *European Journal of Neuroscience* 22: 1679-1690.

Packard MG, Chen SA (1999) The basolateral amygdala is a cofactor in memory enhancement produced by intrahippocampal glutamate injections. *Psychobiology* 27: 377-385.

Packard MG, McGaugh JL (1996) Inactivation of hippocampus or caudate nucleus with lidocaine differentially affects expression of place and response learning. *Neurobiology of Learning and Memory* 65: 65-72.

Pamplona FA, Henes K, Micale V, Mauch CP, Takahashi RN, Wotjak CT (2011) Prolonged fear incubation leads to generalized avoidance behavior in mice. *Journal of Psychiatric Research* 45: 354-360.

Papa M, Pellicano MP, Welzl H, Sadile AG (1993) Distributed changes in c-Fos and c-Jun immunoreactivity in the rat-brain associated with arousal and habituation to novelty. *Brain Research Bulletin* 32: 509-515.

Papez JW (1937) A proposed mechanism of emotion. *Archives of Neurology and Psychiatry* 79:217-224

Pare D, Quirk GJ, Ledoux JE (2004) New vistas on amygdala networks in conditioned fear. *Journal of Neurophysiology* 92: 1-9.

Pavlov IP (1927) Conditioned reflexes.

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

Pearce JM, Hall G (1980) A model for Pavlovian learning - Variations in the effectiveness of conditioned but not of unconditioned stimuli. *Psychological Review* 87: 532-552.

Penfield W, Milner B (1958) Memory deficit produced by bilateral lesions in the hippocampal zone. *AMA Arch Neurol Psychiatry* 79: 475-497.

- Pentkowski NS, Blanchard DC, Lever C, Litvin Y, Blanchard RJ (2006) Effects of lesions to the dorsal and ventral hippocampus on defensive behaviors in rats. *European Journal of Neuroscience* 23: 2185-2196.
- Phillips RG, Ledoux JE (1992) Differential contribution of amygdala and hippocampus to cued and contextual fear conditioning. *Behavioral Neuroscience* 106: 274-285.
- Phillips RG, Ledoux JE (1994) Lesions of the dorsal hippocampal formation interfere with background but not foreground contextual fear conditioning. *Learning & Memory* 1: 34-44.
- Pickens CL, Adams-Deutsch T, Nair SG, Navarre BM, Heilig M, Shaham Y (2009a) Effect of pharmacological manipulations of neuropeptide Y and corticotropin-releasing factor neurotransmission on incubation of conditioned fear. *Neuroscience* 164: 1398-1406.
- Pickens CL, Golden SA, Adams-Deutsch T, Nair SG, Shaham Y (2009b) Long-lasting incubation of conditioned fear in rats. *Biological Psychiatry* 65: 881-886.
- Pickens CL, Holland PC (2004) Conditioning and cognition. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 28: 651-661.
- Pickens CL, Navarre BM, Nair SG (2010) Incubation of conditioned fear in the conditioned suppression model in rats: Role of food-restriction conditions, length of conditioned stimulus, and generality to conditioned freezing. *Neuroscience* 169: 1501-1510.
- Piefke M, Weiss PH, Zilles K, Markowitsch HJ, Fink GR (2003) Differential remoteness and emotional tone modulate the neural correlates of autobiographical memory. *Brain* 126: 650-668.
- Piolino P, Giffard-Quillon G, Desgranges B, Chetelat G, Baron JC, Eustache F (2004) Re-experiencing old memories via hippocampus: a PET study of autobiographical memory. *Neuroimage* 22: 1371-1383.
- 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. *Annals of the New York Academy of Science* 911: 369-391.
- Plaznik A, Tamborska E, Hauptmann M, Bidzinski A, Kostowski W (1988) Brain neurotransmitter systems mediating behavioral deficits produced by inescapable shock-treatment in rats. *Brain Research* 447: 122-132.
- Poirier GL, Amin E, Aggleton JP (2008) Qualitatively different hippocampal subfield engagement emerges with mastery of a spatial memory task by rats. *Journal of Neuroscience* 28: 1034-1045.
- Ponnusamy R, Poulos AM, Fanselow MS (2007) Amygdala-dependent and amygdala-independent pathways for contextual fear conditioning. *Neuroscience* 147: 919-927.
- Postman L, Phillips LW (1965) Short term temporal changes in free recall. *Quarterly Journal of Experimental Psychology*, 17, 132-138.

Pothuizen HH, Zhang WN, Jongen-Relo AL, Feldon J, Yee BK (2004) Dissociation of function between the dorsal and the ventral hippocampus in spatial learning abilities of the rat: a within-subject, within-task comparison of reference and working spatial memory. *European Journal of Neuroscience* 19: 705-712.

Poucet B, Lenck-Santim PP, Paz-Villagran V, Save E (2003) Place cells, neocortex and spatial navigation: a short review. *Journal of Physiology-Paris* 97: 537-546.

Poulos AM, Ponnusamy R, Dong HW, Fanselow MS (2010) Compensation in the neural circuitry of fear conditioning awakens learning circuits in the bed nuclei of the stria terminalis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107: 14881-14886.

Press GA, Amaral DG, Squire LR (1989) Hippocampal abnormalities in amnesic patients revealed by high-resolution magnetic resonance imaging. *Nature* 341: 54-57.

Price DD (2000) Neuroscience - Psychological and neural mechanisms of the affective dimension of pain. *Science* 288: 1769-1772.

## **Q -**

Quirk GJ, Gehlert DR (2003) Inhibition of the amygdala: Key to pathological states? *Amygdala in Brain Function: Basic and Clinical Approaches* 985: 263-272.

Quirk GJ, Repa JC, Ledoux JE (1995) Fear conditioning enhances short-latency auditory responses of lateral amygdala neurons - Parallel recordings in the freely behaving rat. *Neuron* 15: 1029-1039.

Quirk GJ, Russo GK, Barron JL, Lebron K (2000) The role of ventromedial prefrontal cortex in the recovery of extinguished fear. *Journal of Neuroscience* 20: 6225-6231.

## **R -**

Radulovic J, Kammermeier J, Spiess J (1998) Generalization of fear responses in C57BL/6N mice subjected to one-trial foreground contextual fear conditioning. *Behavioural Brain Research* 95: 179-189.

Ragozzino ME, Detrick S, Kesner RP (1999) Involvement of the prelimbic-infralimbic areas of the rodent prefrontal cortex in behavioral flexibility for place and response learning. *Journal of Neuroscience* 19: 4585-4594.

Ramos JMJ (2009) Remote spatial memory and the hippocampus: Effect of early and extensive training in the radial maze. *Learning & Memory* 16: 554-563.

- Rau V, Decola JP, Fanselow MS (2005) Stress-induced enhancement of fear learning: An animal model of posttraumatic stress disorder. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 29: 1207-1223.
- Reed JM, Squire LR (1998) Retrograde amnesia for facts and events: Findings from four new cases. *Journal of Neuroscience* 18: 3943-3954.
- Remondes M, Schuman EM (2004) Role for a cortical input to hippocampal area CA1 in the consolidation of a long-term memory. *Nature* 431: 699-703.
- Rempel-Clower NL, Zola SM, Squire LR, Amaral DG (1996) Three cases of enduring memory impairment after bilateral damage limited to the hippocampal formation. *Journal of Neuroscience* 16: 5233-5255.
- Rescorla RA (1968) Probability of shock in the presence and absence of CS in fear conditioning. *Journal of Comparative and Physiological Psychology* 66: 1-5.
- Rescorla, R.A. , Wagner, A.R. (1972) A theory of Pavlovian conditioning: Variations in the effectiveness of reinforcement and nonreinforcement, *Classical Conditioning II*, A.H. Black & W.F. Prokasy, Eds., pp. 64–99.
- Resstel LBM, Alves FHF, Reis DG, Crestani CC, Correa FMA, Guimaraes FS (2008) Anxiolytic-like effects induced by acute reversible inactivation of the bed nucleus of stria terminalis. *Neuroscience* 154: 869-876.
- Restivo L, Vetere G, Bontempi B, Ammassari-Teule M (2009) The Formation of Recent and Remote Memory Is Associated with Time-Dependent Formation of Dendritic Spines in the Hippocampus and Anterior Cingulate Cortex. *Journal of Neuroscience* 29: 8206-8214.
- Ribot, T. (1881). *Les maladies de la mémoire*.
- Riccio DC, Ackil J, Burchverson A (1992) Forgetting of stimulus attributes - Methodological implications for assessing associative phenomena. *Psychological Bulletin* 112: 433-445.
- Riebe CJ, Wotjak CT (2011) Endocannabinoids and stress. *Stress-the International Journal on the Biology of Stress* 14: 384-397.
- Rinaldi A, Romeo S, Agustin-Pavon C, Oliverio A, Mele A (2010) Distinct patterns of Fos immunoreactivity in striatum and hippocampus induced by different kinds of novelty in mice. *Neurobiology of Learning and Memory* 94: 373-381.
- Rodgers RJ, Dalvi A (1997) Anxiety, defence and the elevated plus-maze. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 21: 801-810.
- Rogan MT, Staubli UV, Ledoux JE (1997) Fear conditioning induces associative long-term potentiation in the amygdala. *Nature* 390: 604-607.
- Rolls ET (2010) A computational theory of episodic memory formation in the hippocampus. *Behavioural Brain Research* 215: 180-196.

- Romanski LM, Ledoux JE (1993) Information cascade from primary auditory-cortex to the amygdala - Corticocortical and corticoamygdaloid projections of temporal cortex in the rat. *Cerebral Cortex* 3: 515-532.
- Roosendaal B, McReynolds JR, Van der Zee EA, Lee S, McGaugh JL, McIntyre CK (2009) Glucocorticoid effects on memory consolidation depend on functional interactions between the medial prefrontal cortex and basolateral amygdala. *Journal of Neuroscience* 29: 14299-14308.
- Roosendaal B, Okuda S, de Quervain DJF, McGaugh JL (2006) Glucocorticoids interact with emotion-induced noradrenergic activation in influencing different memory functions. *Neuroscience* 138: 901-910.
- Rosas JM, Bouton ME (1998) Context change and retention interval can have additive, rather than interactive, effects after taste aversion extinction. *Psychonomic Bulletin & Review* 5: 79-83.
- Rosenbaum RS, Kohler S, Schacter DL, Moscovitch M, Westmacott R, Black SE, Gao FQ, Tulving E (2005) The case of KC: Contributions of a memory-impaired person to memory theory. *Neuropsychologia* 43: 989-1021.
- Rosenbaum RS, Moscovitch M, Foster JK, Schnyer DM, Ga F, Kovacevic N, Verfaellie M, Black SE, Levine B (2008) Patterns of autobiographical memory loss in medial-temporal lobe amnesic patients. *Journal of Cognitive Neuroscience* 20: 1490-1506.
- Rosenbaum RS, Priselac S, Kohler S, Black SE, Gao FQ, Nadel L, Moscovitch M (2000) Remote spatial memory in an amnesic person with extensive bilateral hippocampal lesions. *Nature Neuroscience* 3: 1044-1048.
- Ross RS, Eichenbaum H (2006) Dynamics of hippocampal and cortical activation during consolidation of a nonspatial memory. *Journal of Neuroscience* 26: 4852-4859.
- Royer S, Martina M, Pare D (1999) An inhibitory interface gates impulse traffic between the input and output stations of the amygdala. *Journal of Neuroscience* 19: 10575-10583.
- Royer S, Pare D (2002) Bidirectional synaptic plasticity in intercalated amygdala neurons and the extinction of conditioned fear responses. *Neuroscience* 115: 455-462.
- Rudy JW (1993) Contextual conditioning and auditory cue conditioning dissociate during development. *Behavioral Neuroscience* 107: 887-891.
- Rudy JW (2009) Context representations, context functions, and the parahippocampal-hippocampal system. *Learning & Memory* 16: 573-585.
- Rudy JW, Barrientos RM, O'Reilly RC (2002) Hippocampal formation supports conditioning to memory of a context. *Behavioral Neuroscience* 116: 530-538.
- Rudy JW, Biedenkapp JC, O'Reilly RC (2005) Prefrontal cortex and the organization of recent and remote memories: An alternative view. *Learning & Memory* 12: 445-446.

Rudy JW, Huff NC, Matus-Amat P (2004) Understanding contextual fear



Steenland HW, Li XY, Zhuo M (2012) Predicting aversive events and terminating fear in the mouse anterior cingulate cortex during trace fear conditioning. *Journal of Neuroscience* 32(3):1082-95

Stote DL, Fanselow MS (2004) NMDA receptor modulation of incidental learning in Pavlovian context conditioning. *Behavioral Neuroscience* 118: 253-257.

Stout SC, Miller RR (2007) Sometimes-competing retrieval (SOCR): A formalization of the comparator hypothesis. *Psychological Review* 114: 759-783.

Struthers WM, DuPriest A, Runyan J (2005) Habituation reduces novelty-induced FOS expression in the striatum and cingulate cortex. *Experimental Brain Research* 167: 136-140.

Sullivan GM, Apergis J, Bush DEA, Johnson LR, Hou M, Ledoux JE (2004) Lesions in the bed nucleus of the stria terminalis disrupt corticosterone and freezing responses elicited by a contextual but not by a specific cue-conditioned fear stimulus. *Neuroscience* 128: 7-14.

Sutherland RJ (2010) Retrograde amnesia and the organization of long-term memory. *Canadian Journal of Experimental Psychology-Revue Canadienne de Psychologie Experimentale* 64: 290.

Sutherland RJ, O'Brien J, Lehmann H (2008) Absence of systems consolidation of fear memories after dorsal, ventral, or complete hippocampal damage. *Hippocampus* 18: 710-718.

Sutherland RJ, Rudy JW (1989) Configural association theory - the role of the hippocampal-formation in learning, memory, and amnesia. *Psychobiology* 17: 129-144.

Sutherland RJ, Weisend MP, Mumby D, Astur RS, Hanlon FM, Koerner A, Thomas MJ, Wu Y, Moses SN, Cole C, Hamilton DA, Hoising JM (2001) Retrograde amnesia after hippocampal damage: Recent vs. remote memories in two tasks. *Hippocampus* 11: 27-42.

Swanson LW, Cowan WM (1977) Autoradiographic study of organization of efferent connections of hippocampal formation in rat. *Journal of Comparative Neurology* 172: 49-84.

## **T -**

Tang JR, Ko S, Ding HK, Qiu CS, Calejesan AA, Zhuo M (2005) Pavlovian fear memory induced by activation in the anterior cingulate cortex. *Molecular Pain* 1.

Teixeira CM, Pomedli SR, Maei HR, Kee N, Frankland PW (2006) Involvement of the anterior cingulate cortex in the expression of remote spatial memory. *Journal of Neuroscience* 26: 7555-7564.

Terreberry RR, Neafsey EJ (1983) Rat medial frontal cortex - A visceral motor region with a direct projection to the solitary nucleus. *Brain Research* 278: 245-249.

Teyler TJ, Discenna P (1986) The hippocampal memory indexing theory. *Behavioral Neuroscience* 100: 147-154.

Tulving E (1972). Episodic and semantic memory. In *Organization of Memory*. Academic Press.

Tulving E (1984) Relations among components and processes of memory. *Behavioral and Brain Sciences* 7: 257-263.

Tulving, E. (1995). Organisation of memory: Quo vadis? In *The cognitive neurosciences*, pp.839-847.

Tulving E, Hayman CAG, Macdonald CA (1991) Long-lasting perceptual priming and semantic learning in aAmnesia - A case experiment. *Journal of Experimental Psychology-Learning Memory and Cognition* 17: 595-617.

Tulving E, Markowitsch HJ (1998) Episodic and declarative memory: Role of the hippocampus. *Hippocampus* 8: 198-204.

Tulving E, Schacter DL, Mclachlan DR, Moscovitch M (1988) Priming of semantic autobiographical knowledge - A case-study of retrograde-amnesia. *Brain and Cognition* 8: 3-20.

Turner BH, Herkenham M (1991) Thalamoamygdaloid projections in the rat - A test of the amygdala's role in sensory processing. *Journal of Comparative Neurology* 313: 295-325.

## **U -**

Urcelay GP, Miller RR (2006a) Counteraction between overshadowing and degraded contingency treatments: Support for the extended comparator hypothesis. *Journal of Experimental Psychology-Animal Behavior Processes* 32: 21-32.

## **V -**

Vago DR, Bevan A, Kesner RP (2007) The role of the direct Perforant path input to the CA1 subregion of the dorsal hippocampus in memory retention and retrieval. *Hippocampus* 17: 977-987.

Van den Berg CL, Lamberts RR, Wolterink G, Wiegant VM, Van Ree JM (1998) Emotional and footshock stimuli induce differential long-lasting behavioural effects in rats; involvement of opioids. *Brain Research* 799: 6-15.

Van Strien NM, Cappaert NLM, Witter MP (2009) The anatomy of memory: an interactive overview of the parahippocampal-hippocampal network. *Nature Reviews Neuroscience* 10: 272-282.

Van Dijken HH, Mos J, Vanderheyden JAM, Tilders FJH (1992a) Characterization of stress-induced long-term behavioral changes in rats - Evidence in favor of anxiety. *Physiology & Behavior* 52: 945-951.

Van Dijken HH, Vanderheyden JAM, Mos J, Tilders FJH (1992b) Inescapable footshocks induce progressive and long-lasting behavioral-changes in male-rats. *Physiology & Behavior* 51: 787-794.

VanElzakker M, Fevurly RD, Breindel T, Spencer RL (2008) Environmental novelty is associated with a selective increase in Fos expression in the output elements of the hippocampal formation and the perirhinal cortex. *Learning & Memory* 15: 899-908.

Vargha-Khadem F, Gadian DG, Watkins KE, Connelly A, Van Paesschen W, Mishkin M (1997) Differential effects of early hippocampal pathology on episodic and semantic memory. *Science* 277: 376-380.

Vertes RP (2004) Differential projections of the infralimbic and prelimbic cortex in the rat. *Synapse* 51: 32-58.

Vianna DML, Brandao ML (2003) Anatomical connections of the periaqueductal gray: specific neural substrates for different kinds of fear. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 36: 557-566.

Viard A, Lebreton K, Chetelat G, Desgranges B, Landeau B, Young A, De LS, V, Eustache F, Piolino P (2010) Patterns of hippocampal-neocortical interactions in the retrieval of episodic autobiographical memories across the entire life-span of aged adults. *Hippocampus* 20: 153-165.

Vidal-Gonzalez I, Corcoran KA, Vidal-Gonzalez B, Rauch SL, Quirk GJ (2006) Converging pharmacological, microstimulation, and physiological evidence that the prelimbic prefrontal cortex mediates expression of learned fears in the rat. *Neuropsychopharmacology* 31: S161.

Vidal-Gonzalez I, Vidal-Gonzalez B, Rauch SL, Quirk GJ (2006) Microstimulation reveals opposing influences of prelimbic and infralimbic cortex on the expression of conditioned fear. *Learning & Memory* 13: 728-733.

Vorobyov NA, Brown MW (2008) The topography of activity transmission between lateral entorhinal cortex and subfield CA1 of the hippocampus. *European Journal of Neuroscience* 27: 3257-3272.

## **W -**

Wagner A R, Rescorla R.A (1972) Inhibition in Pavlovian conditioning : Application of a theory, Boakes RA & Halliday MH, Inhibition and learning, New York, Academic Press.

- Walker DL, Davis M (1997) Double dissociation between the involvement of the bed nucleus of the stria terminalis and the central nucleus of the amygdala in startle increases produced by conditioned versus unconditioned fear. *Journal of Neuroscience* 17: 9375-9383.
- Walker DL, Davis M (2008) Role of the extended amygdala in short-duration versus sustained fear: a tribute to Dr. Lennart Heimer. *Brain Structure & Function* 213: 29-42.
- Walker DL, Toufexis DJ, Davis M (2003) Role of the bed nucleus of the stria terminalis versus the amygdala in fear, stress, and anxiety. *European Journal of Pharmacology* 463: 199-216.
- Walker DL, Miles LA, Davis M (2009) Selective participation of the bed nucleus of the stria terminalis and CRF in sustained anxiety-like versus phasic fear-like responses. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry* 33: 1291-1308.
- Walker P, Carrive P (2003) Role of ventrolateral periaqueductal gray neurons in the behavioral and cardiovascular responses to contextual conditioned fear and poststress recovery. *Neuroscience* 116: 897-912.
- 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. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 25: 275-286.
- Wan HM, Aggleton JP, Brown MW (1999) Different contributions of the hippocampus and perirhinal cortex to recognition memory. *Journal of Neuroscience* 19: 1142-1148.
- Wang W, Liu Y, Zheng H, Wang HN, Jin X, Chen YC, Zheng LN, Luo XX, Tan QR (2008) A modified single-prolonged stress model for post-traumatic stress disorder. *Neuroscience Letters* 441: 237-241.
- Wang SH, Teixeira CM, LWheeler A, Frankland PW (2009) The precision of remote context memories does not require the hippocampus. *Nature Neuroscience* 12: 253-255.
- Weiss SM, Wadsworth G, Fletcher A, Dourish CT (1998) Utility of ethological analysis to overcome locomotor confounds in elevated maze models of anxiety. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 23: 265-271.
- Wheeler DS, Miller RR (2008) Determinants of cue interactions. *Behavioural Processes* 78: 191-203.
- Wickelgren WA (1979) Chunking and consolidation - Theoretical synthesis of semantic networks, configuring in conditioning, S-R versus cognitive learning, normal forgetting, the amnesic syndrome, and the hippocampal arousal system. *Psychological Review* 86: 44-60.
- Wilensky AE, Schafe GE, Kristensen MP, Ledoux JE (2006) Rethinking the fear circuit: The central nucleus of the amygdala is required for the acquisition, consolidation, and expression of pavlovian fear conditioning. *Journal of Neuroscience* 26: 12387-12396.
- Wiltgen BJ, Silva AJ (2007) Memory for context becomes less specific with time. *Learning & Memory* 14: 313-317.

Wiltgen BJ, Zhou M, Cai Y, Balaji J, Karlsson MG, Parivash SN, Li W, Silva AJ (2010) The hippocampus plays a selective role in the retrieval of detailed contextual memories. *Current Biology* 20: 1336-1344.

Winocur G (1990) Anterograde and retrograde-amnesia in rats with dorsal hippocampal or dorsomedial thalamic lesions. *Behavioural Brain Research* 38: 145-154.

Winocur G, Frankland PW, Sekeres M, Fogel S, Moscovitch M (2009) Changes in context-specificity during memory reconsolidation: Selective effects of hippocampal lesions. *Learning & Memory* 16: 722-729.

Winocur G, McDonald RM, Moscovitch M (2001) Anterograde and retrograde amnesia in rats with large hippocampal lesions. *Hippocampus* 11: 18-26.

Winocur G, Moscovitch M, Bontempi B (2010) Memory formation and long-term retention in humans and animals: Convergence towards a transformation account of hippocampal-neocortical interactions. *Neuropsychologia* 48: 2339-2356.

Winocur G, Moscovitch M, Sekeres M (2007) Memory consolidation or transformation: context manipulation and hippocampal representations of memory. *Nature Neuroscience* 10: 555-557.

Wirtshafter D (2005) Cholinergic involvement in the cortical and hippocampal Fos expression induced in the rat by placement in a novel environment. *Brain Research* 1051: 57-65.

## **Y -**

Young SL, Bohenek DL, Fanselow MS (1994) NMDA processes mediate anterograde amnesia of contextual fear conditioning induced by hippocampal damage - immunization against amnesia by context preexposure. *Behavioral Neuroscience* 108: 19-29.

Young S, Fanselow MS (1992) Associative regulation of pavlovian fear conditioning: unconditional stimulus intensity, incentive shifts and latent inhibition. *Journal of Experimental Psychology and Animal Behavioral Processes* 18: 400- 413.

## **Z -**

Zhu XO, Brown MW, McCabe BJ, Aggleton JP (1995) Effects of the novelty or familiarity of visual stimuli on the expression of the immediate-early gene c-Fos in rat brain. *Neuroscience* 69: 821-829.