



HAL
open science

Rôle central de l'Ocytocine dans la neurophysiologie de la personnalité sociale : interaction avec la sérotonine et implication dans la pathologie de l'autisme

Raphaëlle Mottolese

► To cite this version:

Raphaëlle Mottolese. Rôle central de l'Ocytocine dans la neurophysiologie de la personnalité sociale : interaction avec la sérotonine et implication dans la pathologie de l'autisme. Neurosciences [q-bio.NC]. Université Claude Bernard - Lyon I, 2013. Français. NNT : 2013LYO10129 . tel-01141012

HAL Id: tel-01141012

<https://theses.hal.science/tel-01141012>

Submitted on 10 Apr 2015

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

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

N° ordre 129-2013

Année 2013

THESE DE L'UNIVERSITE DE LYON

Délivrée par

L'UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON 1

ECOLE DOCTORALE
Neurosciences et Cognition

DIPLOME DE DOCTORAT

(arrêté du 7 août 2006)

soutenue publiquement le Mardi 10 Septembre 2013

par

MOTTOLESE Raphaëlle

TITRE :

Rôle central de l'Ocytocine dans la Neurophysiologie de la Personnalité Sociale :

Interaction avec la Sérotonine et Implication dans la Pathologie de l'Autisme

Directeur de thèse : Dr. Angela SIRIGU

JURY : Pr. Nicolas GEROGIEFF Président du Jury
Pr. Catherine BARTHELEMY..... Rapporteur
Dr. Bice CHINI Rapporteur
Dr. Monica ZILBOVICIUS..... Membre du Jury
Dr. Angela SIRIGU..... Directeur de Thèse

RESUME en français

Interagir avec autrui est crucial pour notre survie. Différentes études ont mis en évidence le rôle de l'ocytocine (OT) dans la sociabilité et l'affiliation. La première partie de notre travail montre qu'il y a un lien entre la concentration d'ocytocine plasmatique et l'ocytocine centrale et que les deux sont corrélées au niveau d'extraversion des individus. L'OT plasmatique corrèle aussi au volume de l'amygdale et de l'hippocampe, deux régions cérébrales importantes pour le comportement social. Nous montrons également que l'administration d'OT entraîne une modification (augmentation) de la perception subjective de la sociabilité. L'ensemble de ces résultats suggère que l'OT constitue un biomarqueur de la personnalité sociale et pourrait servir au diagnostic de pathologies sociales comme l'Autisme. Nous avons étudié le fonctionnement central de l'OT et particulièrement son interaction avec la sérotonine (5-HT), impliquée elle aussi dans la régulation du comportement social. Avec la Tomographie par Emission de Positron (TEP) et grâce à un radioligand ([18-F]MPPF) spécifique des récepteurs 5-HT_{1A} de la 5-HT nous montrons que l'administration d'OT entraîne, chez le sujet sain une augmentation du potentiel de liaison (BP) du MPPF traduisant une modification de l'activité de la 5-HT au niveau du raphe, de l'amygdale/hippocampe, de l'insula et du cortex orbitofrontal, régions clés pour le traitement du comportement social. Les patients Asperger démontrent une diminution du MPPF BP par rapport aux contrôles au niveau de ces mêmes régions, différence qui s'annule par la prise d'OT. Ces résultats confirment le potentiel thérapeutique de l'OT et ouvrent de nouvelles pistes de recherche visant à intégrer la relation entre les neurotransmetteurs dans les futurs traitements. L'ensemble de ce travail place l'ocytocine au cœur de la physiologie du comportement social et suggère son utilisation tant au niveau du diagnostic que de la prise en charge de l'Autisme.

TITRE en anglais

The role of Oxytocin in the physiology of social behavior : Interaction with serotonin and its implication for Autism.

RESUME en anglais

Interacting with others is crucial for human fitness. In the past decade, there has been a growing interest for oxytocin (OXT) and its implication in social behavior. In the first section of this work we show that peripheral and central concentrations of OXT are correlated. Peripheral and central OXT are also correlated with subjects' extraversion and with the volume of amygdala and hippocampus, two brain regions important for the regulation of social behavior. Interestingly, we show that OXT intake increases the subjective perception of subjects' sociability. These findings suggest that OXT can be considered a biomarker of social behavior, thus opening the possibility of using this hormone in the screening process of psychiatric disorder like Autism. In a second section, we focused on the central action of OXT and in particular its interaction with another neurotransmitter also essential for social behavior: the serotonin (5-HT). We assessed OXT effect on the central serotonergic activity in healthy subjects using the Positron Emission Tomography (PET) thanks to a radiotracer ([18-F]MPPF) specific for the 5-HT_{1A} receptors and known to be localised in brain regions important for social processing. Our results show that oxytocin administration increases MPPF binding potential (BP) in raphe nuclei, right amygdala, hippocampus and orbitofrontal cortex. Interestingly, Asperger patients showed a decrease in MPPF BP in these regions compared to controls. This difference disappeared after oxytocin. These results strengthen the role of oxytocin in social behavior and underline the therapeutic potential of this neuromodulator for psychiatric disorders implicating both serotonin and oxytocin dysfunctions.

DISCIPLINE : Neurosciences

MOTS-CLES :

Français : Ocytocine, Sérotonine, personnalité sociale, comportement social, Autisme

Anglais : Oxytocin, Serotonin, social personality, social behavior, Autism

INTITULE ET ADRESSE DE L'U.F.R. OU DU LABORATOIRE :

Centre de Neurosciences Cognitive UMR 5229
67 boulevard Pinel
69675 Bron Cedex

REMERCIEMENTS

La réalisation de ce travail n'a été possible que grâce à la contribution d'un grand nombre de personnes que je tiens à remercier :

Mes pensées vont tout d'abord aux patients et à leur famille qui ont participé à cette étude. Ces rencontres ont été extrêmement enrichissantes. Sans leur grande volonté de vouloir apporter de nouvelles connaissances sur leur pathologie, rien n'aurait été possible.

Je remercie aussi tous les volontaires qui nous ont accordé de leur temps pour faire avancer ces projets.

Je remercie particulièrement mon directeur de recherche Angela SIRIGU, pour m'avoir permis de travailler sur un projet original, innovant, passionnant, s'appuyant sur des techniques d'imagerie de pointe. Je la remercie aussi pour son soutien, ses conseils et sa grande connaissance scientifique tout au long de ce projet.

Je tiens aussi à remercier les membres de ce jury de thèse : le Pr Nicolas GEORGIEFF, le Pr Catherine BARTHELEMY, le Dr Bice CHINI et le Dr Monica ZILBOVICIUS, qui ont spontanément accepté notre invitation. Je les remercie pour leur disponibilité et pour le temps qu'ils ont accordé à mon travail.

Je remercie particulièrement Catherine BARTHELEMY et Bice CHINI d'avoir accepté d'être rapporteur de cette thèse.

L'ensemble de ce projet n'aurait pu se faire sans les soutiens financiers du CNRS, de la Fondation de France, de la Recherche Fondamentale, de la Région Rhône-Alpes ainsi que du Ministère de la Recherche.

Je remercie toutes les personnes travaillant au CERMEP, pour leur aide précieuse et leur soutien sans faille tout au long de ce projet :

Jérôme REDOUTE pour sa disponibilité, sa gentillesse, son aide tout au long de l'étude TEP ainsi que sa grande patience pour m'avoir aidé à faire, refaire, re-refaire les différentes étapes de traitement des images ainsi que les analyses !

Nicolas COSTES pour ses conseils statistiques toujours avisés et son implication dans la finalisation du projet

Didier LEBARS pour avoir fait en sorte que la TEP parte toujours à l'heure !

Rolf HECKEMANN pour son travail important sur les IRM

Pr Stéphane THOBOIS pour avoir accepté de prendre part à ce projet

Dr Claire BILLOTEY pour avoir réalisé les visites médicales des sujets avant inclusion et s'être rendue extrêmement disponible.

Véronique BERTHIER, Fabienne VEY, Christine VIGHI, Audrey MORIN toujours exemplaires dans la prise en charge des participants de l'étude.

Je remercie aussi vivement le Pr Marion LEBOYER ainsi que le Dr. Marie-Maude GEOFFRAY qui ont participé activement aux recrutements des patients.

Je remercie le Dr Carmine MOTTOLESE et ses collaborateurs : le Dr Alexandre SZATMARI et le Dr Moncef BEHROUMA d'avoir accepté de participer à ce projet et pour leur grande disponibilité tout au long de son déroulement.

Aussi, la réalisation de ce travail n'aurait été possible sans une collaboration étroite avec l'équipe de Neurobiotec : Nathalie DUFAY, Lilia HABESSI, Raphael PEREIRA et Guillaume FIARD.

Je tiens à remercier également Laurence CHARDON pour sa collaboration et sa disponibilité lors des dosages sérotonine.

Je remercie aussi Christelle, ainsi qu'Esma, qui ont su gérer toute la logistique inhérente à la venue des patients et l'aspect administratif indissociable du projet. Leur aide a été indispensable.

Bien évidemment, ce travail n'aurait pu aboutir sans le soutien et la contribution des membres de notre équipe de recherche durant ces 6 années (du master 1 au doctorat) :

Michel pour son soutien, ses conseils et critiques scientifiques tout au long de cette thèse et dans sa finalisation, Elissar qui m'a encadrée à mon arrivée et avec qui j'ai réalisé les premières études de cette thèse, Irène qui est arrivée en même temps que moi, Nathalie et Sylvain présent dès mon entrée dans l'équipe pour leur soutien continu, Philippe Vindras et sa grande connaissance statistique, Andrès pour sa gestion optimale du Tobbi en crise, Gilles et ses expéditions alimentaires, Nadia pour son soutien permanent, Lucia dit Lucius, Marie Maude et son énergie débordante, Gian Luca et son thé à la menthe, Alessandra mon ancienne 'coloc', Brook pour sa gentillesse, Manon pour m'avoir initiée au thé « booster » d'énergie bien utile pour la dernière ligne droite et ses encouragements « t'es une winneuse ! », Arthur pour son travail efficace sur le projet LCR, Charles pour son aide durant cette dernière année. Je remercie particulièrement Flavia, ma 'coloc' de bureau pour son soutien permanent « Forza Soldato ! », sa lavande, son aide et nos nombreux fou-rire qui ont rendu la réalisation de cette thèse plus facile. Il y a certainement un peu de Flavia dans ce travail.

Le soutien et les encouragements de toute l'équipe auront été indispensables.

Je remercie aussi tous les autres étudiants de l'ISC : Sara, Romain, Olivier, Elaine, Caroline, Romuald, Erik, Elise, Maude, Aurélie, Ignacio, « les Marions », Augustin, Mathieu, Raphael, Audrey, Nicola ...

Je remercie aussi particulièrement Sébastien pour son aide lors des dosages Elisa au son de « radio-classique ».

Je remercie aussi l'ensemble des membres et équipes du CNC pour tous nos échanges scientifiques ou plus personnels durant ces six dernières années et pour leurs encouragements tout au long de ce travail.

Je tiens enfin à remercier tous mes amis, ma familles et mes proches, leur soutien tout au long de cette période a été déterminant :

A mon Bouchon et ses « Tout va bien se passer », pour toutes nos aventures, nos fous-rire et « pisse-mémé » ; Pika et ma Lolotte toujours présentes depuis plus de 10 ans ; ainsi que ma « Ju », Poussin, Béné, Ana, Marjo, Sandrine... pour tous les potins échangés au cours de nos « soirées filles » qui redonnent le sourire et pour s'être portées volontaires pour certaines études de cette thèse !

A Alexia, mon « coucou », rencontrée lors du Master 1 au labo et devenue une vraie copine « DJOBI DJOBA !! ».

A ma Steph, toujours présente ces dernières années, nos dinettes aux Verdi ont été indispensables.

A mes Mimie et Lili, copines inoubliables des classes prépa.

A l'Ecurie Philippe Monnet, une équipe au « Taupe » : Phil, Amandine, Laure, Margot, Alex, Pascalou, Delph, Lolotte, Anaëlle, Ninie, Vic, Marion et Marion, Marie-Alice, les Françoise, Marine, François...pour le soutien de l'équipe, les apéros, les ballades, les concours qui piquent et nos nombreuses rigolades !

A ma Tatine et mon Gé,

A ma Dada toujours présente,

A Giovanna, Peppe, Marina, Fabby, Lydius,

A ma sœur Laura que j'adore,

A Moncef, indispensable, qui a su me donner l'énergie nécessaire pour continuer à travailler quand les batteries étaient vides.

A mes parents que j'aime tant, pour m'avoir toujours soutenue et encouragée dans la réalisation de ce projet.

LISTE DES ABREVIATIONS

OT : Ocytocine

5-HT : 5-hydroxytryptamine, sérotonine

5-HT_{1A} R : Récepteur 5-HT_{1A} de la sérotonine

AVP : Vassopressine

PVN : Noyau Paraventriculaire de l'hypothalamus

LCR : Liquide Céphalo Rachidien

LCS : Liquide Cérébro Spinal

SON : Noyau Supraoptique de l'hypothalamus

IRM : Imagerie par Résonance Magnétique

IRMf : Imagerie par Résonance Magnétique fonctionnelle

TEP : Tomographie par Emission de Positons

[18F]MPPF : 2'Methoxyphenyl-(N-2'-pyridinyl)-p-18F-fluoro-benzamidoethylpiperazine

BP : Binding Potential (Potentiel de Liaison)

KO: Knock-out

ACC: Cortex Cingulaire Antérieur

OFC: Cortex Orbito Frontal

SSRI: Serotonin Selective Reuptake Inhibitor

Table des matières

INTRODUCTION GENERALE	12
A. Rôle de l'ocytocine dans le comportement social.....	13
1. Rôle de l'ocytocine dans le comportement social à travers le résultat des recherches animales	16
2. Implication de l'ocytocine au niveau du comportement social de l'être humain	17
3. Les régions cérébrales cibles de l'ocytocine	20
B. L'ocytocine constitue elle la base neurophysiologique de notre comportement social ?	21
1. Etant donné que l'ocytocine est capable de moduler notre comportement social, ne pourrait-elle pas être à la base de la neurophysiologie de notre sociabilité ?.....	22
2- L'ocytocine est-elle capable de moduler la perception sociale du « soi » (self social awareness) ?.....	24
C. Existe-t-il une relation entre ocytocine centrale et périphérique ? L'ocytocine périphérique reflète-t-elle la modulation centrale de notre comportement social ?.....	25
D. Relation entre ocytocine centrale et les autres neuromédiateurs, e.g. la sérotonine.....	28
1. Le système sérotoninergique, son implication au niveau comportemental et dans la pathologie de l'autisme.....	29
2. Existence d'une relation réciproque entre ocytocine et sérotonine ?	32
E. La dérégulation de la relation entre ocytocine et sérotonine est-elle impliquée dans la pathologie de l'autisme ?	37
1. Présentation de la pathologie de l'Autisme	37
2. Implication de l'ocytocine dans la pathologie de l'autisme	39
3. Dysfonctionnement sérotoninergique dans la pathologie de l'autisme.....	41
F. Objectifs de l'étude	45
1. L'ocytocine constitue-t-elle la base neurophysiologique de notre comportement social ?.....	46
2. Existe-t-il une relation entre l'ocytocine centrale et les autres neuromédiateurs, e.g. la sérotonine	51

PREMIERE PARTIE :L'OCYTOCINE CONSTITUE-T-ELLE LA BASE NEUROPHYSIOLOGIQUE DE NOTRE PERSONNALITE SOCIALE ? 55

RAPPEL DES QUESTIONS POSEES DANS CETTE PARTIE..... 56

A. CHAPITRE 1: L'OCYTOCINE SERAIT-ELLE DIRECTEMENT LIEE A LA NEUROPHYSIOLOGIE DE NOTRE PERSONNALITE SOCIALE ? 57

Présentation et Résumé de l'étude..... 58

1. Abstract..... 59

2. Introduction 60

3. Materials and Methods. 63

4. Results 67

5. Discussion..... 73

B. CHAPITRE 2 : L'OCYTOCINE EST ELLE CAPABLE D'INFLUENCER LA PERCEPTION DE NOTRE PROPRE SOCIABILITE ? 79

Présentation et Résumé de l'étude..... 80

1. Abstract..... 81

2. Introduction 82

3. Material and Method 84

4. Results 86

5. Discussion..... 88

C. CHAPITRE 3 : EXISTE-T-IL UNE CORRELATION ENTRE OCYTOCINE PLASMATIQUE ET PERIPHERIQUE ? 91

Présentation et Résumé de l'étude..... 92

Abstract..... 93

1. Introduction 94

2. Méthode 106

3. Résultats..... 114

4. Discussion..... 122

RECAPITULATIF DES PRINCIPAUX RESULTATS DE L'ETUDE 133

DEUXIEME PARTIE : DE L'OCYTOCINE AU COMPORTEMENT SOCIAL, MISE EN JEU DE LA SEROTONINE et IMPLICATION DANS LA PATHOLOGIE DE L'AUTISME	134
RAPPEL DES QUESTIONS POSEES DANS CETTE DEUXIEME PARTIE.....	135
A. CHAPITRE 1 : L'OCYTOCINE EST-ELLE CAPABLE D'INFLUENCER L'ACTIVITE SEROTONINERGIQUE CENTRALE ?	136
<i>Présentation et Résumé de l'étude</i>	137
1. Abstract.....	138
2. Report	138
3. Supplementary Materials:.....	148
B. CHAPITRE 2 : LA RELATION ENTRE OCYTOCINE ET SEROTONINE EST-ELLE ATTEINTE DANS LA PATHOLOGIE DE L'AUTISME ?.....	156
<i>Présentation et Résumé de l'Etude</i>	157
1. Abstract.....	158
2. Introduction	159
3. Materials and Methods:	162
4. Results	167
5. Discussion.....	172
RECAPITULATIF DES PRINCIPAUX RESULTATS DE L'ETUDE	177
DISCUSSION GENERALE	178
A. RAPPEL DES PRINCIPAUX RESULTATS DE L'ETUDE	178
1. L'ocytocine, biomarqueur de la personnalité sociale.....	178
2. Modulation de l'activité de la sérotonine par l'ocytocine et implication dans la pathologie de l'Autisme	181
B. INTERETS DE L'ENSEMBLE DU PROJET	184
1. Intérêts scientifiques du projet.....	184
2. Intérêts cliniques et thérapeutiques : l'ocytocine du diagnostic au traitement de l'autisme.....	185
C. LIMITES DE L'ETUDE.....	188
1. Nombres de sujets.....	188
2. Difficultés techniques et méthodologiques.....	189

D. PERSPECTIVES DU PROJET	192
1. Etudes complémentaires visant à mieux comprendre l'interaction entre ocytocine et sérotonine.....	192
2. Ocytocine, sérotonine, dopamine, les dessous du comportement social	193
F. CONCLUSION	195
BIBLIOGRAPHIE	196
ANNEXES	215
A. ANNEXE I: FONCTIONNEMENT SOCIAL DANS L'AUTISME.....	215
B. ANNEXE II : INFLUENCE DE LA PERSONNALITE AGGRESSIVE SUR LA DISCRIMINATION DES EMOTIONS.....	224
C. ANNEXE III : TEMOIGNAGE DES PATIENTS AYANT PARTICIPE A NOTRE ETUDE	245

INTRODUCTION GENERALE

Qu'il soit nomade ou sédentaire l'homme a toujours vécu en société. Nos relations sociales que ce soit avec nos partenaires, nos familles, nos amis, nos collègues sont essentielles à notre bien-être et notre santé mentale (Smith et al., 1999). Ainsi, l'exclusion sociale augmente les sentiments de tristesse et de colère et affecte notre moral et notre estime de soi (Williams et al. 2005). De cette façon, même si être exclu est rémunéré et rapporte de l'argent, les individus préfèrent être inclus dans un groupe (Van Beest and Williams 2006). En effet, cette situation active les mêmes régions cérébrales que la douleur physique (Eisenberger et al., 2003). L'homme semble donc être fait pour vivre en société et son comportement social, régi par des mécanismes innés et automatiques (Frith and Frith, 2007), faire partie intégrante de sa nature (Ralph Adolphs 2003b). Par conséquent, les pathologies psychiatriques sont souvent associées à des troubles du comportement social (Lim and Young 2006).

Comprendre les mécanismes impliqués dans le fonctionnement de notre cerveau social (Ralph Adolphs 2009) et responsable de notre sociabilité reste donc un enjeu majeur de la recherche actuelle. Un comportement social adapté dépend de l'activité optimale et coordonnée de certaines régions cérébrales (pour une revue détaillée sur les régions impliquées dans le comportement social se référer à (Frith and Frith 2007)). Dans ce contexte, Insel fut le premier à s'intéresser à la neurobiologie impliquée dans l'activité neuronale associée à notre sociabilité (T R Insel et al. 1997). Les recherches de ces dernières décennies ont mis en évidence le rôle important de l'ocytocine (OT) dans la régulation des comportements d'affiliation comprenant l'accouplement, la formation de paire durable, le comportement parental (maternel et paternel) et les comportements d'attachement (Bartz and Hollander 2006). Une telle implication au niveau de la sociabilité suggère que cette dernière tient un rôle important dans le fonctionnement de notre cerveau social (Feldman et al., 2012).

L'ensemble de ce travail vise à mieux comprendre la place de l'ocytocine dans la physiologie du comportement social (Partie 1, page 54) ainsi que son action au niveau central de par son interaction avec la sérotonine, et ce chez le sujet sain et le patient autiste (Partie 2, page 133).

A. Rôle de l'ocytocine dans le comportement social

Le terme ocytocine dérive des mots grecs *oxys* et *tokos* signifiant « rapide » et « naissance », en référence à son rôle au niveau de la contraction des muscles utérins lors de l'accouchement tel que décrit par le chercheur anglais Sir Henry Dale en 1906 (Dale et al., 1906).

L'ocytocine est un petit peptide composé de neuf acides aminés. Sa structure a été découverte en 1953 par Vincent du Vigneau, travail pour lequel il recevra le prix Nobel de Chimie en 1955 (DU VIGNEAUD, RESSLER, and TRIPPETT 1953). La composition moléculaire de l'ocytocine est très similaire à celle de la Vasopressine (AVP) connue pour son rôle d'hormone antidiurétique. Ocytocine et vasopressine sont toutes deux synthétisées au niveau de l'hypothalamus et libérées au niveau de la neurohypophyse dans la circulation périphérique où elles tiennent une action hormonale (Bealer et al., 2010). Néanmoins, l'ocytocine agit aussi comme neurotransmetteur au niveau central. En effet, l'ocytocine, synthétisée au niveau des noyaux paraventriculaire (PVN) et supraoptique (SON) de l'hypothalamus (Moos and Richard 1989) est aussi libérée directement dans le cerveau (Bealer et al., 2010). Les études de ces dernières années ont donc mis en évidence qu'en modifiant l'activité électrique des neurones, l'ocytocine pourrait influencer le fonctionnement cérébral (Sofroniew et al., 1983) et par conséquent notre comportement social.

L'action centrale de l'ocytocine résulte du signal transmis via l'activation de son récepteur couplé à une protéine G (Koehbach et al. 2013; Kimura et al. 1992). Chez l'homme le récepteur

de l'ocytocine a été isolé et identifié par Kimura et ses collaborateurs (Kimura et al. 1992). Il s'agit d'un polypeptide de 388 acides aminés, organisés en 7 domaines transmembranaires typiques de la famille des récepteurs couplés à une protéine G.

La plupart des résultats concernant la localisation centrale du récepteur de l'ocytocine proviennent d'études réalisées chez l'animal principalement le rat et la souris. Ces études ont révélé la présence de récepteurs à l'ocytocine dans plusieurs régions cérébrales comme le système olfactif, les aires corticales, le système limbique (amygdale et hippocampe) mais aussi au niveau du tronc cérébral (Gerald Gimpl and Fahrenholz 2001b) (Figure 1, extraite de (Lee et al. 2009)).

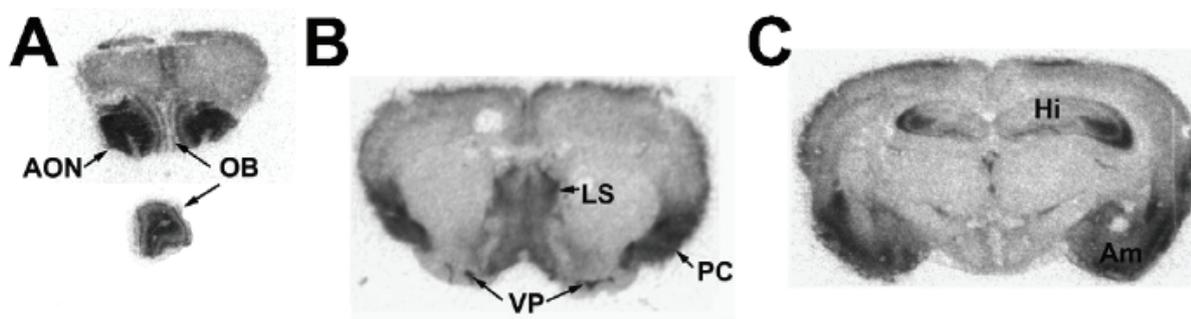


Figure 1. Localisation centrale des récepteurs à l'ocytocine.

La répartition des récepteurs à l'ocytocine a été étudiée chez des souris (coupes coronales : A, B, C). Les analyses ont révélé la présence de récepteurs à l'ocytocine au niveau de A) le noyau olfactif antérieur (AON), le bulbe olfactif (OB); B) le septum latéral (LS), le pallidum ventral (VP), le cortex piriforme (PC); C) la formation hippocampique (Hi) et l'amygdale (Am) (extrait de Lee et al. 2009).

Les quelques études réalisées chez les primates ont révélé la présence de récepteurs à l'ocytocine également au niveau du cortex orbitofrontal (OFC) (Boccia et al. 2007).

Néanmoins, ces investigations ont aussi mis en évidence une variabilité importante de la répartition des récepteurs entre différentes espèces animales. En effet, chez le rat le récepteur à l'ocytocine est présent en forte densité au niveau de l'hypothalamus alors qu'aucun récepteur à l'ocytocine n'a été retrouvé dans cette région chez d'autres espèces comme le cochon d'inde, le

lapin ou encore le hamster (Gimpl and Fahrenholz 2001). Ceci soulève la question d'une variabilité voire d'une spécificité inter espèces du récepteur à l'ocytocine.

Pour des raisons techniques évidentes peu d'études ont pu être réalisées à ce propos chez l'homme. Une seule étude autopsique a été effectuée chez 12 sujets par l'équipe de Loup, confirmant la présence du récepteur de l'ocytocine dans notre cerveau. Cependant, là encore ces résultats montraient des divergences quant à la localisation du récepteur de l'ocytocine par rapport aux études animales. Un taux important de récepteurs à l'ocytocine a été trouvé au niveau de la substance noire et du nucleus de Meynert. Paradoxalement, cette étude a révélé l'absence de récepteur au niveau de l'hippocampe et de l'amygdale, du cortex entorhinal ainsi qu'au niveau du bulbe olfactif (Loup et al. 1989).

Singulièrement, les effets comportementaux de l'ocytocine sont communs à de nombreuses espèces, confirmant la complexité d'un système dont le fonctionnement est encore loin d'être connu. Les investigations dans ce sens sont donc essentielles mais restent difficiles de par l'absence d'un radio traceur spécifique du récepteur de l'ocytocine chez l'homme (Koehbach et al. 2013). Néanmoins, les chercheurs redoublent d'efforts dans ce domaine car les enjeux et implications thérapeutiques sont importants.

En conclusion, même si de nombreuses questions restent encore en suspens, les investigations chez l'animal de ces dernières années ont révélé que les récepteurs à l'ocytocine étaient distribués au niveau de différentes régions cérébrales et donc impliqués dans différents aspects du comportement social et des relations d'affiliations (Young and Wang 2004). De cette, façon l'ocytocine contribue certainement aux mécanismes neuronaux qui sous-tendent notre comportement social.

Par conséquent, il s'est rapidement posé la question de savoir quelles seraient les conséquences d'une administration d'ocytocine sur le comportement social (pour une revue se référer à (Yamasue et al. 2012)).

1. Rôle de l'ocytocine dans le comportement social à travers le résultat des recherches animales

Pedersen a été le premier à mettre en évidence que l'administration d'ocytocine induit un comportement maternel chez des rates vierges (Pedersen et al. 1982), suggérant que l'ocytocine aurait un rôle stratégique dans la mise en place de la relation mère/enfant. Dans ce contexte, il a été montré que l'ocytocine était indispensable au phénomène de reconnaissance entre la mère et son petit chez le mouton (Kendrick et al. 1997).

De plus, l'administration centrale d'ocytocine, en modulant la préférence envers un congénère orienterait le choix du partenaire et favoriserait la formation d'un couple durable (Williams et al. 1994). Ainsi, la répartition des récepteurs de l'ocytocine au niveau central semble être directement liée au mode de vie de l'animal. En effet, une espèce de campagnols monogame aura plus de récepteurs de l'ocytocine au niveau de régions clés du comportement par rapport à une espèce de campagnols dite polygame (Young and Wang 2004).

Cependant, l'implication de l'ocytocine au niveau du comportement social n'est pas limitée au comportement d'affiliation et de formation de paire durable. L'ocytocine est aussi fortement impliquée dans les relations de stress et d'anxiété (Windle et al. 1997b) qu'elle est capable d'atténuer (McCarthy et al. 1996). Ce neuropeptide joue aussi un rôle au niveau de la mémoire sociale : des souris knock-out (KO) pour le récepteur de l'ocytocine démontrent d'importantes difficultés à reconnaître leurs congénères. Ce déficit est restauré par l'administration centrale d'ocytocine (Ferguson et al. 2000).

De façon intéressante, une étude réalisée chez le singe a révélé que les individus qui passaient plus de temps seul, possédaient significativement moins d'ocytocine au niveau du liquide céébrospinal (LCS) par rapport aux animaux passant la majeure partie de leur temps en groupe (Winslow et al. 2003). Aussi, l'ocytocine semble promouvoir la cohésion du groupe chez les campagnols (Carter et al. 1992) et ce même en situation de stress.

Etant donné que les études animales ont démontré une très forte implication de l'ocytocine au niveau de différents aspects du comportement social, rapidement les scientifiques ont voulu tester l'effet comportemental de l'administration d'ocytocine chez l'homme.

2. Implication de l'ocytocine au niveau du comportement social de l'être humain

Les effets de l'ocytocine sur notre comportement ainsi que les mécanismes d'action qui les régissent sont encore mal connus, notamment à cause de difficultés méthodologiques évidentes. En effet, contrairement aux études réalisées chez l'animal qui peuvent utiliser de nombreuses techniques plus ou moins invasives comme l'administration centrale d'ocytocine ainsi que les manipulations génétiques; la même chose est impossible chez l'homme. Par conséquent, les chercheurs doivent se contenter d'utiliser des moyens indirects pour évaluer l'effet de l'ocytocine sur notre comportement social comme l'administration intra-nasale d'ocytocine.

Une première étude réalisée dans ce domaine est celle mettant en évidence que l'ocytocine favorise la confiance et le comportement social à travers l'utilisation du paradigme du Trust Game (Kosfeld et al. 2005). Au cours de cette tâche, les sujets avaient à leur disposition une certaine somme d'argent. Ils pouvaient choisir d'en envoyer un montant (n) à leur partenaire appelé « *Trustee* ». Ce montant envoyé était triplé mais le participant (appelé *investor*) n'avait aucune garantie que le « *Trustee* » partagerait le montant reçu. Après ocytocine, le participant

augmentait significativement le montant « n » envoyé au *Trustee*, représentatif de la confiance investie dans son partenaire. Par conséquent, l'ocytocine semble avoir eu un important effet pro-social en augmentant la confiance éprouvée par les sujets envers leur partenaire. Ceci est d'autant plus intéressant que l'administration de cette dernière n'a aucun effet lorsque le participant joue contre un ordinateur bien que le paradigme soit strictement identique. L'ocytocine agirait donc spécifiquement dans un contexte social.

Dans ce sens, Theodoridou et ses collaborateurs ont mis en évidence que l'ocytocine augmente le sentiment de confiance inspiré par des visages (Theodoridou et al. 2009). De plus, des personnes souffrant d'un sentiment d'insécurité relationnelle rapportent une augmentation de leur sentiment d'attachement et de sécurité affective après ocytocine (Buchheim et al. 2009). Par conséquent, ces premières études ont souligné l'implication de l'ocytocine dans la formation du couple et surtout dans le maintien d'une relation stable et durable (pour une revue concernant l'ocytocine et les relations d'affiliation se référer à (Feldman et al. 2012)).

Enfin, des études ont mis en évidence que l'ocytocine favoriserait également la motivation d'engagement social ainsi que notre capacité à coopérer (De Dreu et al. 2010; Rilling et al. 2012) et à cohabiter avec les autres (Gordon et al. 2011). L'ocytocine favoriserait donc notre aptitude à développer nos relations sociales.

Interagir de manière adaptée avec autrui implique d'être capable d'interpréter, de comprendre, ainsi que d'anticiper le comportement des individus à partir des indices sociaux donnés par leur comportement. Cette capacité est couramment appelée "mind reading", littéralement «lecture de l'esprit» (Siegal and Varley 2002). Les sujets sous ocytocine augmentent leurs performances aux tâches évaluant spécifiquement cette capacité (the Reading in the Mind in the Eyes Task, RMET) comparés aux personnes ayant reçu du placebo (Domes et al. 2007).

Par la suite, des études ont mis en évidence que l'ocytocine augmentait significativement le temps passé à regarder la région des yeux (Guastella et al. 2008). Or, des informations cruciales

sur le comportement des autres et ce qu'ils pensent sont tirées de cette région du visage (Baron-Cohen et al. 2001; Haxby et al. 2002). Par conséquent, l'hypothèse a été faite que l'ocytocine maximiserait notre capacité à interpréter le comportement des autres (Guastella et al. 2008) et à reconnaître leurs émotions et expressions en augmentant le temps passé à regarder la région des yeux.

Egalement comme chez l'animal, l'administration d'ocytocine favorise la reconnaissance sociale, c'est-à-dire la mémorisation des visages mais n'affecte pas la mémoire de stimuli non sociaux (Rimmele et al. 2009), confirmant encore une fois l'action spécifique de l'ocytocine au niveau du comportement social.

En résumé, les recherches de ces dernières années ont confirmé chez l'homme l'effet comportemental pro-social de l'ocytocine mis en évidence chez l'animal et donc souligné l'importance de cette dernière au niveau du comportement social. Ses mécanismes d'action au niveau central étant encore mal connus, les études comportementales ont été couplées à des études d'imagerie par résonance magnétique (IRM) afin d'élucider les réseaux neuronaux responsables des effets comportementaux de l'ocytocine.

3. Les régions cérébrales cibles de l'ocytocine

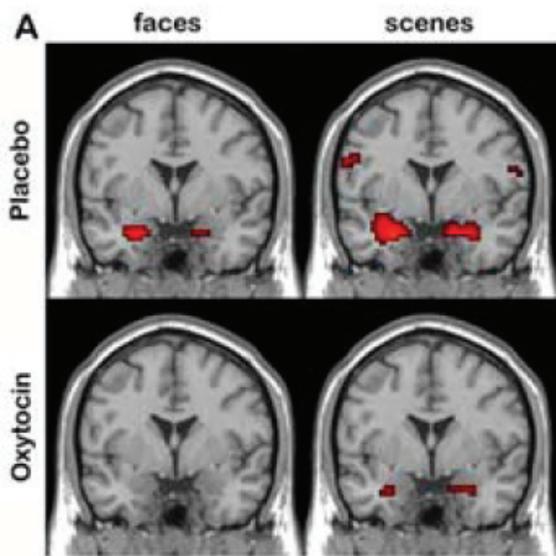


Figure 2. Inhibition de l'activité de l'amygdale après ocytocine (extrait de Kirsch et al. 2005)

Etant donné l'implication comportementale de l'ocytocine principalement au niveau des comportements d'affiliation, de la confiance des individus envers les autres, de la reconnaissance des émotions, ainsi qu'au niveau des réactions de stress et d'anxiété, l'hypothèse a été proposée qu'au niveau central l'ocytocine pourrait moduler l'activité d'une région clé de notre fonctionnement social (Ralph Adolphs 2003b) ainsi que du traitement

des émotions et des expressions (LeDoux et al. 1988) : l'amygdale.

Une première étude d'Imagerie par résonance magnétique fonctionnelle (IRMf) a été conduite par l'équipe de Kirsch et publiée en 2005 afin de vérifier cette hypothèse. L'effet de l'ocytocine a été testé sur la réponse cérébrale à des stimuli de différentes valences émotionnelles et connus pour entraîner l'activation de l'amygdale (Kirsch et al. 2005). Cette étude a mis en évidence que l'administration intra-nasale d'ocytocine diminuait significativement l'activité de l'amygdale par rapport à l'administration de placebo (Figure 2).

Encore une fois les effets de l'ocytocine étaient spécifiques des stimuli à valence sociale. De la même façon, l'équipe de Baumgartner a mis en évidence qu'en diminuant l'activité de l'amygdale, l'ocytocine promeut le sentiment de confiance et ce même après une trahison de la part d'un partenaire. (Baumgartner et al. 2008).

Toutefois, l'action de l'ocytocine au niveau cérébral ne se limite pas à son effet au niveau de l'amygdale. En effet, dans le contexte de son implication au niveau maternel, une étude IRMf a

révélé que l'ocytocine diminuait chez les mamans l'activité de l'amygdale en réponse aux cris de leurs enfants tout en augmentant l'activité de l'insula. D'autres études ont aussi mis en évidence que l'ocytocine était capable de moduler la connectivité de l'amygdale avec d'autres régions cérébrales comme l'hippocampe, l'insula, le cortex orbito-frontal (OFC) et le cortex cingulaire antérieur (ACC) (Riem et al. 2011). Ces études ont testé les effets de l'ocytocine sur l'activité cérébrale alors que les sujets étaient engagés dans une tâche sociale.

Au repos, l'ocytocine agit notamment sur la connectivité existante entre l'amygdale et le cortex préfrontal médial, connu pour être impliqué dans les processus de mentalisation (Sripada et al. 2012).

Par conséquent, les études d'imagerie ont permis de mettre en évidence l'action de l'ocytocine principalement au niveau de l'amygdale, de l'hippocampe, de l'insula et du cortex cingulaire antérieur ainsi que les cortex orbito-frontal et préfrontal médial. Toutes ces régions font parties intégrante du cerveau social et sont donc essentielles à notre comportement social (Ralph Adolphs 2009; Frith and Frith 2007).

B. L'ocytocine constitue-t-elle la base neurophysiologique de notre comportement social ?

En résumé, les recherches de ces dernières années que ce soit chez l'homme ou chez l'animal ont mis en évidence l'action comportementale de l'ocytocine. L'ensemble de ces études nous a conduits à nous poser cette première question :

1. Etant donné que l'ocytocine est capable de moduler notre comportement social, ne pourrait-elle pas être à la base de la neurophysiologie de notre sociabilité ?

La plupart des résultats démontrant l'implication de l'ocytocine au niveau comportemental, proviennent d'études ayant testé l'effet de l'administration de l'ocytocine sur le comportement social. Cependant, aucune n'a mis en évidence un lien physiologique direct entre les concentrations d'ocytocine périphérique et notre comportement social.

En effet, si l'homme pourrait être qualifié d'animal social, nous ne nous comportons pas tous de la même manière en société et certaines personnes sont alors plus à l'aise que d'autres.

Si l'ocytocine est capable de promouvoir différents aspects du comportement social, ne pourrait-elle pas être directement liée au degré de sociabilité des individus ?

Les études ayant mis en évidence que sous ocytocine les individus augmentaient leurs facultés sociales, nous faisons l'hypothèse que les individus plus extravertis posséderaient significativement plus d'ocytocine plasmatique par rapport aux personnes de nature plus timide (Partie 1, Chapitre 1, page 55).

Soutenant cette hypothèse, l'équipe de Winslow a ainsi étudié le niveau des concentrations d'ocytocine dans le liquide céphalo-rachidien (LCR) et dans le sang chez des groupes de singes ayant été élevés différemment. Ils ont mis en évidence que les individus passant plus de temps seuls, possédaient significativement moins d'ocytocine au niveau du LCR par rapport aux animaux passant la majeure partie de leur temps en groupe (Winslow et al. 2003).

Aussi, la distribution centrale des récepteurs à l'ocytocine est différente entre une espèce de campagnols monogame « *prairies voles* » par rapport à l'espèce polygame « *montanes voles* » (Young and Wang 2004), suggérant que l'organisation du système ocytocinergique pourrait être différent en fonction du comportement social des individus.

Egalement, si grâce au progrès de la recherche, nous savons que l'administration d'ocytocine influence l'activité de régions cérébrales impliquées dans notre comportement, aucune étude que ce soit chez l'homme ou chez l'animal, n'a mis en évidence de relation directe entre les structures touchées par l'ocytocine et les concentrations d'ocytocine des individus.

Etant donné l'influence importante de l'ocytocine sur l'activité de l'amygdale et de l'hippocampe (Kirsch et al. 2005; Ralph Adolphs 2003a), n'existerait-il pas un lien entre le niveau d'ocytocine et la morphologie de ces structures ?

Nous faisons l'hypothèse que s'il existe bien une relation entre l'ocytocine et la personnalité sociale des individus, celle-ci devrait être répercutée au niveau central plus particulièrement sur les structures clés du comportement social, cibles de l'ocytocine : l'amygdale et l'hippocampe.

Par conséquent, notre étude comportementale sera doublée par une étude d'imagerie par résonance magnétique (IRM) afin de déterminer s'il existe une corrélation entre l'ocytocine plasmatique, le volume et la morphologie des structures cérébrales (Partie 1, Cahpitre 1, page 55).

Il nous semblait indispensable d'apporter une réponse à ces questions encore en suspens. En effet établir un lien physiologique entre l'ocytocine et notre comportement social permettrait de définir cette hormone comme biomarqueur du comportement social et donc servir dans le diagnostic de pathologies caractérisées par d'importants troubles du comportement social comme l'autisme.

En plus de ces questions cruciales évoquées précédemment, ayant menées à la réalisation de cette première étude, nous avons fait le constat suivant : l'ensemble des études précédemment

réalisée a mis en évidence l'influence de l'ocytocine sur le comportement, mais peu se sont intéressées à son effet sur notre propre sentiment de sociabilité.

2- L'ocytocine est-elle capable de moduler la perception sociale du « soi » (self social awareness) ?

En effet, nos ressources psychologiques sont essentielles à notre santé mentale et psychologique et donc favorisent ainsi un comportement optimal (Taylor et al. 2003). La perception que nous avons de nous-même tiendrait une part essentielle dans notre comportement social. Dans ce sens, certaines études suggèrent que l'ocytocine pourrait renforcer nos ressources psychologiques c'est-à-dire notre estime et notre maîtrise de soi ainsi que notre optimisme (Saphire-Bernstein et al. 2011). L'ocytocine aurait donc en amont de son effet comportemental une action au niveau psychologique favorisant ainsi un comportement optimal.

Dans ce sens, une étude menée par Lucht et ses collaborateurs a mis en évidence chez 258 adultes, l'association entre le gène codant pour le récepteur de l'ocytocine et les affects positifs, négatifs ressentis par les individus ainsi que leur sentiment de solitude (Lucht et al. 2009) suggérant l'implication des polymorphismes du gène codant pour le récepteur à l'ocytocine dans l'expression de notre sociabilité (pour une revue sur l'implication des gènes codant pour le système ocytocinergique dans notre comportement se référer à (Ebstein et al. 2012a)).

Par conséquent, dans la deuxième étude de cette première partie (Partie 1, Chapitre 2, page 78), nous faisons l'hypothèse que l'ocytocine serait capable d'influencer la perception sociale que nous avons de nous-même. Nous pensons que l'ocytocine augmenterait notre sentiment de sociabilité et de confiance envers les autres permettant ainsi l'expression d'un comportement social optimal. Si cette hypothèse est vérifiée cela

démontrerait que l'ocytocine pourrait agir en amont de notre comportement et ainsi avoir une double action psychologique et comportementale.

Comme toutes les études réalisées chez l'homme visant à mesurer le niveau de fonctionnalité du système ocytocinergique, nous utilisons l'évaluation des concentrations périphériques d'ocytocine. Ainsi, la plupart des études comportementales partent du postulat que l'ocytocine périphérique reflèterait, le niveau d'ocytocine central. Or, la plupart des études à ce sujet sont contradictoires et aucune réponse claire n'a été établie. Par conséquent, il nous semblait indispensable de s'attacher à répondre à cette question

C. Existe-t-il une relation entre ocytocine centrale et périphérique ? L'ocytocine périphérique reflète-t-elle la modulation centrale de notre comportement social ?

L'ocytocine est en effet sécrétée à la fois au niveau central et au niveau périphérique par l'intermédiaire de la neurohypophyse (Bealer, Armstrong, and Crowley 2010), laissant penser que les deux systèmes devraient être corrélés.

Cependant, les études précédemment réalisées à ce sujet chez l'homme par ponctions lombaires n'ont réussi à mettre en évidence une telle relation, suggérant jusqu'à l'indépendance des deux systèmes (Kagerbauer et al. 2013a). De façon contradictoire, une étude menée chez le rat a mis en évidence que durant une situation de stress induite par un test de nage forcée, les concentrations d'ocytocine centrale et périphérique variaient simultanément (Wotjak et al. 1998), suggérant qu'il existerait bel et bien une relation entre ces deux systèmes. Dans, ce sens une étude a récemment démontré que la stimulation des neurones ocytocinergiques dans

l'hypothalamus entraînait la libération de l'ocytocine simultanément au niveau de l'amygdale et dans la circulation périphérique (Knobloch et al. 2012).

Comme nous l'avons déjà précisé, la plupart des études chez l'homme visant à établir ces corrélations ont été réalisées par ponction lombaire. Or, certaines études suggèrent que la composition (et donc la concentration d'OT) du LCR spinal ne serait pas nécessairement la même que celle du LCR cérébral (Veening et al. 2010a). De plus, cette technique d'examen médical invasive est génératrice d'un niveau de stress important pouvant fortement influencer les concentrations d'ocytocine. En effet, l'équipe de Kalin a montré, il y a déjà plusieurs années, que l'administration de glucocorticoïde de synthèse chez le singe entraînait une augmentation d'ocytocine plasmatique (Kalin et al. 1985).

Il nous semblait donc primordial de chercher à répondre à cette question (Partie 1, Chapitre 3, page 90) en utilisant une autre méthode que la ponction lombaire. Ainsi, nous sommes, à notre connaissance, les premiers à évaluer la concentration d'ocytocine centrale à partir de prélèvements de LCR effectués directement dans le cerveau lors d'une intervention neurochirurgicale.

Nous pensons pouvoir de cette manière avoir des concentrations d'ocytocine centrales plus représentatives que celles obtenues par des dosages effectués à partir de prélèvements spinaux.

Etant donné que d'une part l'administration d'ocytocine favorise certains aspects de notre comportement social grâce à son action au niveau central et que d'autre part, nous avons mis en évidence l'existence d'une corrélation entre la concentration plasmatique des individus et leur niveau d'extraversion, nous faisons l'hypothèse que l'ocytocine plasmatique refléterait l'ocytocine centrale. Cette idée corrobore avec les études ayant montré que l'ocytocine du LCR semblent tenir un rôle à part entière dans l'action

centrale comportementale de l'ocytocine (pour une revue sur les effets comportementaux médiés par l'ocytocine dans le LCR se référer à (Veening, De Jong, and Barendregt 2010a)).

Ayant mis en évidence l'existence d'une corrélation entre le niveau plasmatique des individus avec leurs concentrations d'ocytocine plasmatique ainsi que le volume de leur région cérébrale ((Andari et al. 2012), Partie 1, chapitre 1, page 55), nous faisons l'hypothèse que le niveau d'extraversion des individus serait également corrélé avec leur concentration d'ocytocine au niveau du LCR.

Enfin, la première partie de cette thèse cherche à définir la place de l'ocytocine dans la physiologie de notre comportement social. Ce travail vise à déterminer si l'ocytocine pourrait être définie comme biomarqueur de la personnalité social et donc participer au diagnostic précoce de pathologies comme l'autisme.

Suite à nos investigations sur l'action de l'ocytocine dans notre comportement social, nous nous sommes intéressés à son action au niveau central. En effet, si les études animales et d'imagerie chez l'homme permettent de connaître ces principales zones d'action dans notre cerveau, les mécanismes qui régissent ces interactions ne sont pas clairs. De plus, très peu d'études se sont interrogées sur l'interaction de l'ocytocine avec d'autres neuromodulateurs de notre comportement social. Cette question nous semble pourtant indispensable et doit être prise en compte dans la compréhension du mode d'action de l'ocytocine au niveau central.

D. Relation entre ocytocine centrale et les autres neuromédiateurs, e.g. la sérotonine.

Différents neurotransmetteurs sont aussi impliqués dans le comportement social tels que la sérotonine, la dopamine ou encore la vasopressine et le cortisol (R Adolphs 2001). Cela induit nécessairement l'existence de relations réciproques et coordonnées entre ces neurotransmetteurs. L'ocytocine pourrait ainsi moduler et/ou être modulée par les autres acteurs de notre fonctionnement social.

On sait par exemple qu'il existe une relation réciproque entre l'ocytocine et le cortisol (Tops et al. 2007). En effet, l'ocytocine est connue pour exercer un effet anxiolytique à travers son action sur ce dernier (C S Carter 1998), l'administration d'ocytocine ayant pour conséquence de supprimer les réponses au cortisol (Heinrichs et al. 2003). Inversement, l'ocytocine est aussi libérée en réponse au stress (Kalin et al. 1985).

Par conséquent, ces résultats témoignent de l'existence d'interaction entre l'ocytocine et les autres neuromodulateurs du comportement. Si certains de ces modèles sont aujourd'hui bien connus, d'autres sont encore loin d'être totalement compris; c'est le cas de la relation ocytocine/sérotonine. Pourtant, si l'on se réfère à l'importance que tiennent ces deux neurotransmetteurs au niveau de notre comportement social mais aussi du fonctionnement global de notre organisme ainsi que leur implication dans les troubles psychiatriques, il semble fort probable qu'une relation étroite puisse exister entre ces deux neuromodulateurs. Par conséquent, cette relation pourrait s'avérer capitale pour la bonne expression de notre nature sociale, d'où l'importance de s'y intéresser.

Nous allons dans un premier temps rappeler l'implication du système sérotoninergique au niveau du comportement social et de l'autisme, puis nous évoquerons les arguments soutenant l'existence d'une relation réciproque entre oxytocine et sérotonine.

1. Le système sérotoninergique, son implication au niveau comportemental et dans la pathologie de l'autisme

Découverte de la sérotonine, mécanisme de synthèse et mode de fonctionnement

La 5-hydroxytryptamine (5-HT), mieux connue sous le nom de sérotonine, est une monoamine dérivée du tryptophane. La sérotonine a été découverte et nommée pour la première fois en 1948 par Maurice M. Rapport, Arda Green and Irvin Page.

Comme, l'oxytocine, la 5-HT a d'abord été connue pour son action périphérique mais cette fois-ci au niveau des vaisseaux sanguins où elle est stockée dans les plaquettes sanguines.

Cependant la synthèse de sérotonine a été également retrouvée non seulement au niveau

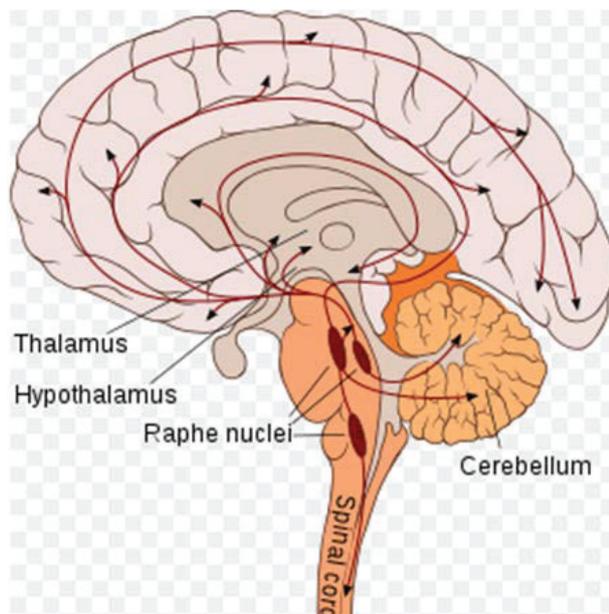


Figure 3 : Représentation schématique du système sérotoninergique

Les neurones sérotoninergiques sont localisés au niveau des noyaux du Raphé et projettent leurs axones vers les aires corticales.

périphérique dans les cellules entérochromaphine du tractus gastro-intestinal mais aussi directement dans le système nerveux central (CNS) où les neurones sérotoninergiques sont localisés au niveau du raphé projetant leurs axones libérant la sérotonine à travers tout le cerveau (Hornung et al. 2003; Moore et al. 1978) (Figure 3).

Les zones de projection principales des fibres sérotoninergiques sont l'hypothalamus, les aires limbiques comme l'amygdale et l'hippocampe,

le cortex et le striatum (Lucki et al. 1998) (Figure 3). Ainsi, les neurones 5-HT qui possèdent une structure parfaitement adaptée à leur fonction, sont capables de moduler simultanément l'activité de différentes régions cérébrales (Lucki et al. 1998).

Comme l'ocytocine, la sérotonine présente à la fois au niveau central et périphérique est impliquée dans de nombreux aspects du fonctionnement de notre organisme comme les fonctions gastro-intestinales, la régulation vasculaire, la thermorégulation en périphérie mais aussi l'appétit, le sommeil, le comportement sexuel, les fonctions motrices, l'impulsivité, le stress et l'agressivité au niveau central (Aghajanian and Sanders-Bush 2002). L'implication de la sérotonine dans de si nombreux et variés mécanismes physiologiques a conduit certains scientifiques à qualifier cette dernière comme « le plus mystérieux des principaux neuromodulateurs présent chez les vertébrés » (Daw et al. 2002).

L'action de la sérotonine se fait grâce à son interaction avec un de ces nombreux récepteurs. En effet, quatorze récepteurs à la sérotonine sont répertoriés, regroupés en 7 familles, ce qui participe à accentuer la complexité du système sérotoninergique. De par son large champ d'action, la sérotonine est un des principaux neuromodulateurs de l'activité cérébrale.

De plus, la sérotonine apparaît dans les tous premiers stades du développement et influencerait tous les processus développementaux de notre cerveau (Zafeiriou et al. 2009). En effet, la sérotonine joue un rôle critique au niveau de la synaptogénèse, de la neuro-genèse ainsi qu'au niveau du développement, de la différenciation et de la formation des dendrites (Whitaker-Azmitia et al. 2001). Par conséquent, une mise en place optimale du système sérotoninergique semble être cruciale pour le développement d'un comportement social approprié tout au long de la vie.

Implication de la sérotonine au niveau du comportement social

Une des premières théories à propos de l'implication de la sérotonine au niveau du comportement est la suivante : une activité élevée du système sérotoninergique serait associée à une diminution de l'activité comportementale alors qu'une activité réduite de ce système est associée à un accroissement des réponses comportementales par exemple une augmentation de l'activité locomotrice ainsi que des comportements agressifs et impulsifs (Lucki et al. 1998).

Cette implication de la sérotonine dans la régulation des comportements impulsifs est supposée fortement participer à notre comportement social et contribuer à l'expression de réactions appropriées en réponses aux nombreux stimuli sociaux et émotionnels qui nous entourent. Ainsi, une diminution de sérotonine induite par déplétion du tryptophane modulerait nos réactions à l'injustice soulignant l'influence de la sérotonine dans les mécanismes de régulation des émotions (Crockett et al. 2008). De plus, des variations génétiques des composants du système sérotoninergique semblent être liées directement à notre personnalité et notre tempérament (Murphy et al. 1998; Hariri and Weinberger 2003)).

Enfin, une étude a mis en évidence que la sérotonine était essentielle, nécessaire et suffisante pour induire un comportement de grégarisation d'une espèce d'invertébrés : les sauterelles du Désert (Anstey et al. 2009), confirmant l'implication de la sérotonine dans les mécanismes qui sous-tendent notre comportement social.

Cependant, comme nous l'avons précédemment mentionné, le fonctionnement du système sérotoninergique est extrêmement complexe et donc « impossible à expliquer en une seule et unique théorie » (Daw et al. 2002). Par conséquent, comprendre clairement l'ensemble des mécanismes qui sous-tendent l'action sérotoninergique s'avère extrêmement difficile et les données dans ce domaine soulèvent beaucoup de controverses.

En effet, les théories générales sur la sérotonine, stipulent que la diminution d'activité du système sérotoninergique correspondrait à une augmentation des comportements d'impulsivité et d'agressivité. Parallèlement, il a été mis en évidence que la stimulation du récepteur 5-HT_{1A} de la sérotonine, qui pourtant entraîne une diminution de la sécrétion de 5-HT dans les zones de projections, entrainerait une diminution du stress et de l'anxiété (Parks et al. 1998) ce qui semble contredire les préceptes précédemment évoqués.

Néanmoins l'implication de la sérotonine au niveau comportemental est indéniable et renforcée par le fait que des dysfonctionnements de ce système font partie intégrante de l'étiologie de nombreux troubles psychiatriques incluant la dépression, l'anxiété sociale ou encore les comportements compulsifs (Hariri and Weinberger 2003) ainsi que la pathologie de l'autisme (Chugani et al. 2002).

Comme l'ocytocine, la sérotonine participe à une grande variété de phénomènes dans notre corps aussi bien au niveau central qu'au niveau périphérique. De la même manière, ocytocine et sérotonine sont toutes deux impliquées dans différents aspects du comportement social ainsi que dans la dépression, l'anxiété sociale, et surtout l'autisme. Ces caractéristiques communes entre les deux systèmes renforcent l'idée d'une interaction étroite entre les deux neuromodulateurs.

Ainsi, dans la partie suivante de cette introduction nous nous attacherons à mettre en évidence les arguments qui sous-tendent cette hypothèse.

2. Existence d'une relation réciproque entre ocytocine et sérotonine ?

Progressivement, la neurophysiologie s'est intéressée à la relation ocytocine/sérotonine, et majoritairement à l'action de la sérotonine sur l'ocytocine. Ainsi, il a rapidement été suggéré que les effets antidépresseurs des inhibiteurs à la recapture de la sérotonine pourraient être la conséquence d'une modulation par ces derniers de l'activité ocytocinergique (K Uvnäs-Moberg

et al. 1999; de Jong et al. 2007). De plus, l'hypothèse d'une interaction entre les deux neurotransmetteurs est également soutenue par le fait que des régions essentielles du comportement social et notamment de la reconnaissance des émotions semblent être sous l'influence des deux systèmes ocytocine et sérotonine ce qui suggère dans le même temps la co-localisation des récepteurs correspondants.

Par exemple, le raphé envoie une grande densité de projections au niveau du nucleus central de l'amygdale (Zafeiriou et al. 2009) et l'hypersérotoninémie est aussi connue pour affecter la structure de l'hippocampe, deux régions cibles de l'action de l'ocytocine (Yan et al. 1997).

Mise en évidence de l'influence du système sérotoninergique sur l'ocytocine

Les études histologiques et immunologiques ont commencé à focaliser leur attention sur cette interaction. Elles ont permis de mettre en évidence que les fibres sérotoninergiques originaires des noyaux du raphé projettent directement au niveau des noyaux PVN et SON de l'hypothalamus où est synthétisée l'ocytocine centrale (Sawchenko et al. 1983). Par conséquent, les neurones ocytocinergiques sont entourés de fibres sérotoninergiques (Emiliano et al. 2007) (Figure 4).

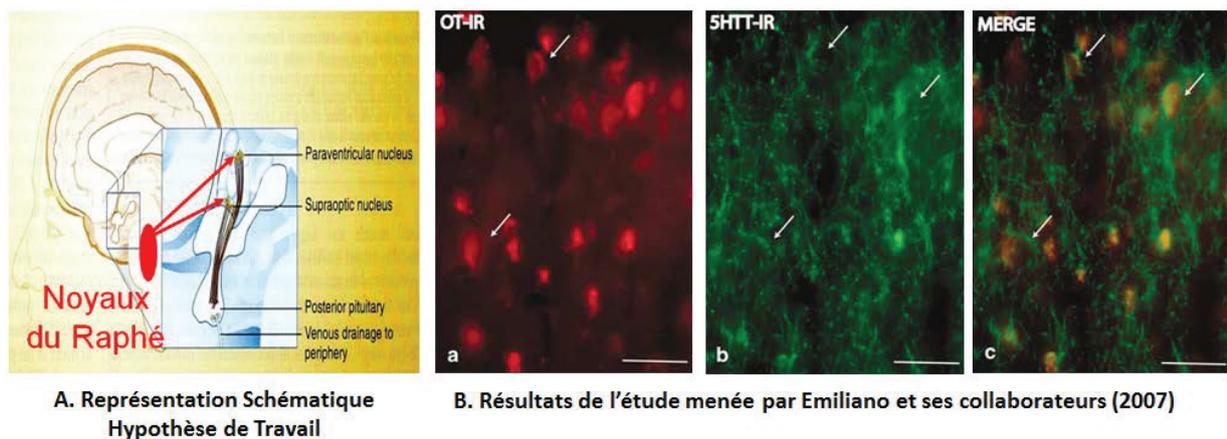


Figure 4. Influence du système sérotoninergique sur le système ocytocinergique

A. L'hypothèse a été faite que les fibres sérotoninergiques projettent directement au niveau des noyaux Paraventriculaire et Supraoptique de l'hypothalamus où est synthétisée l'ocytocine. **B.** Emiliano et ses collaborateurs ont mis en évidence, chez le macaque, grâce à des techniques d'immunocytochimie et de marquage par double immunofluorescence que les cellules ocytocinergiques de l'hypothalamus marquées en rouge (B.a.) étaient entourées des fibres sérotoninergiques marquées en vert (B.b) (B.c, double marquage) (Figures extraite de Emiliano et al. 2007) mettant en évidence la capacité du système sérotoninergique à pouvoir moduler l'activité du système ocytocinergique.

Ainsi, il a été montré que la sérotonine était capable de moduler la libération d'ocytocine par son action sur ces différents récepteurs présents dans ces régions (Jørgensen et al. 2003; Ho et al. 2007). De plus, l'administration de fenfluramine, un agoniste de la sérotonine, provoque une augmentation de la concentration de plasmatique de l'ocytocine (Lee et al. 2003).

Par conséquent, si l'influence de la sérotonine sur le système ocytocinergique semble avérée, on sait encore peu de choses quant à l'influence de l'ocytocine sur la sérotonine.

Influence du système ocytocinergique sur l'activité de la sérotonine

En effet, très peu d'études se sont intéressées à l'influence de l'ocytocine sur le système sérotoninergique.

Une étude réalisée chez la souris a permis de mettre en évidence, grâce à la combinaison de manipulation génétique et de techniques d'immuno-marquages, que les neurones 5-HT du raphé étaient porteur des récepteurs à l'ocytocine et que l'administration d'ocytocine entraînait la libération de sérotonine (Yoshida et al. 2009) (Figure 5).

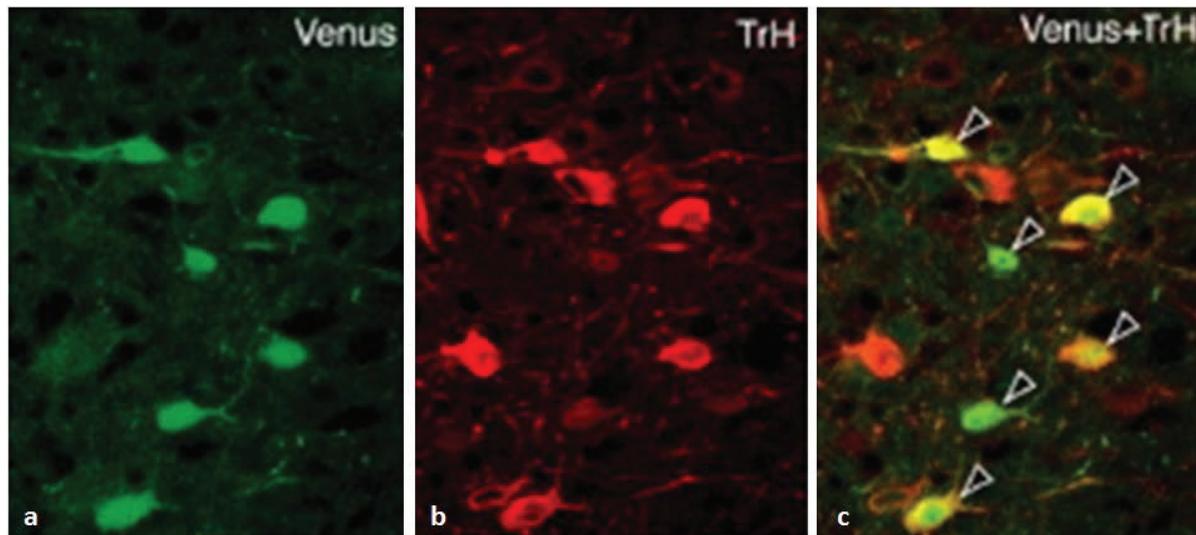


Figure 5. Localisation des récepteurs ocytocinergiques sur les neurones sérotoninergiques du Raphe Dorsal (Extrait de Yoshida et al. 2009)

Grâce à des techniques d'immunocytochimie et de marquage par double immunofluorescence, Yoshida et ses collaborateurs ont mis en évidence chez la souris qu'au niveau du Raphe Dorsal, les cellules exprimant le récepteur à l'ocytocine (a. marquage Vert correspondant à la protéine fluorescente « Venus ») étaient localisées sur les cellules synthétisant la sérotonine (b. marquage rouge correspondant à la Tryptophane Hydroxylase (TrH))(c. double marquage) suggérant qu'à ce niveau l'ocytocine pouvait influencer l'activité sérotoninergique.

Par conséquent, l'ocytocine pourrait influencer la sérotonine grâce à ces récepteurs sur les neurones sérotoninergiques du raphé, véritable tour de contrôle et point de départ de l'activité sérotoninergique centrale. Egalement, une récente étude a mis en évidence que l'ocytocine avait un effet organisationnel sur le système sérotoninergique (Eaton et al. 2012) en agissant sur l'arborisation dendritique des fibres sérotoninergiques.

Ces résultats renforcent l'hypothèse d'une action de l'ocytocine à son tour sur le système sérotoninergique. La nature de la relation entre ces deux neurotransmetteurs serait donc bidirectionnelle.

Par conséquent, l'idée d'un rapport réciproque entre ces deux systèmes de neurotransmetteurs prend de plus en plus d'ampleur. Dans ce contexte, une étude réalisée chez l'homme a mis en évidence une corrélation entre l'ocytocine plasmatique et le transporteur de la sérotonine localisé sur les plaquettes et suggère qu'une telle relation pourrait être capitale dans le contexte de troubles psychiatriques (Marazziti et al. 2012).

Cependant, il n'existe à notre connaissance aucune étude ayant évalué l'impact d'une administration d'ocytocine sur l'activité centrale de la sérotonine. Pourtant, l'ensemble de ces résultats nous a convaincu qu'une telle relation pourrait s'avérer capitale dans le contexte du comportement social ainsi que pour toutes les pathologies qui lui sont rattachées (Partie 2, page 133).

Ceci nous a donc conduit à la réalisation d'une étude en imagerie par Tomographie par Emission de Positons (TEP), où nous avons testé l'influence de l'ocytocine sur l'activité sérotoninergique par l'intermédiaire de son effet sur le radiotracer le 2'Methoxyphenyl-(N-2'-pyridinyl-p-18F-fluoro-benzamidoethyl)piperazine ([18-F]MPPF) spécifique des récepteurs 5-HT_{1A} de la sérotonine.

En effet, le récepteur 5-HT_{1A} est situé dans des régions clés de notre comportement social. Celui-ci est largement localisé au niveau du raphé (lieu de synthèse de la sérotonine), de l'amygdale et de l'hippocampe, du cortex cingulaire antérieur et des régions du cortex préfrontal (Costes et al. 2005; Varnäs et al. 2004). Ces régions font partie intégrante du cerveau social et sont connues pour être également cible de l'action ocytocinergique.

Nous faisons ainsi l'hypothèse que l'administration d'ocytocine entrainerait dans ces régions ciblées par ces deux systèmes de neurotransmetteurs une modification de l'activité sérotoninergique illustrée par une variation du potentiel de liaison du MPPF.

Etant donné le déficit du potentiel de liaison du récepteur 5-HT_{1A} caractérisé dans de nombreuses pathologies comme l'anxiété sociale ou encore la dépression (Savitz et al. 2009), nous supposons que l'ocytocine pourrait entrainer une augmentation du potentiel de liaison du MPPF (représentatif du potentiel de liaison du récepteur 5-HT_{1A}).

Nous sommes ainsi convaincus qu'il existe une relation étroite entre ces deux acteurs de la chimie cérébrale et que celle-ci pourrait s'avérer cruciale dans une pathologie sociale comme l'autisme. En effet, la plupart des études sur l'implication des neuromodulateurs dans les troubles psychiatriques et particulièrement dans l'autisme traitent l'implication respective de ces derniers généralement séparément. Il nous semble fondamental d'étudier la relation entre ces deux neuromodulateurs dans cette pathologie. D'autant plus que des dommages des deux systèmes ocytocinergique et sérotoninergique font partie intégrante de l'étiologie de l'autisme.

E. La dérégulation de la relation entre ocytocine et sérotonine est-elle impliquée dans la pathologie de l'autisme ?

L'autisme est un trouble envahissant du développement caractérisé entre autre par d'importants déficits au niveau de la communication et de l'interaction sociale. D'après le rapport d'information du Sénat sur les actes du colloque relatif à l'autisme du 6 décembre 2012 et disponible en utilisant le lien suivant :

<http://vaincrelautisme.org/sites/default/files/Rapport%20S%C3%A9nat.pdf> ;

l'Autisme, « Grande Cause nationale » en 2012, toucherait 250 000 à 600 000 personnes en France.

1. Présentation de la pathologie de l'Autisme

L'Autisme a été décrit pour la première fois chez des enfants par Léo Kanner en 1943. Aujourd'hui il est considéré comme un trouble envahissant du développement et répertorié dans le manuel Diagnostic et Statistique des maladies mentales ; DSM-IV-TR (American Psychiatric Association, 2000) (Rapin et al. 2002).

Les recherches menées au cours des dernières décennies ont mis en évidence qu'un certain nombre de pathologies (Autisme, syndrome de Rett et d'Asperger, trouble envahissant du comportement non spécifique) partagent des caractéristiques communes comme une altération de la communication, du comportement social, de la cognition ainsi que la présence de comportements répétitifs et stéréotypiques (Pardo and Eberhart 2007). Ces pathologies ont été regroupées ensemble sous le nom de Troubles du Spectre Autistique ou plus simplement « les autismes » (traduit littéralement de l'anglais : The autisms) (Geschwind and Levitt 2007).

Les premiers signes cliniques du spectre autistique se manifestent généralement avant l'âge de trois ans. L'Autisme classique est la forme la plus sévère de l'ensemble de ces pathologies. En effet, la sévérité des troubles caractéristiques de la maladie varie au sein du spectre autistique.

Ainsi, certains patients présentant une forme très sévère d'autisme, montrent un comportement social extrêmement distant et froid voire absent alors qu'à l'inverse d'autres patients cherchent le contact social mais de manière totalement inappropriée, témoignant de l'hétérogénéité des patients touchés par l'Autisme (Volkmar et al. 1989).

Dans notre étude nous avons travaillé avec des patients pouvant être qualifiés d'Autistes de Haut Niveau de Fonctionnement (HFA) ou touchés par le syndrome d'Asperger (AS). Hans Asperger décrivit cette forme d'Autisme en 1944 mais ce dernier fut introduit dans le DSM-IV seulement en 1994. Le syndrome d'Asperger est caractérisé par d'importants déficits de l'interaction sociale ainsi que par la présence de comportements stéréotypés et répétés. Cependant le syndrome d'Asperger se différencie des autres pathologies composant le spectre autistique par l'absence de troubles du langage, de retard mental et cognitif (Klin et al. 2006). Par conséquent, bien souvent le syndrome d'Asperger est diagnostiqué plus tardivement et est resté longtemps méconnu également des professionnels de santé.

Malgré l'hétérogénéité du spectre autistique, un comportement social déficient reste commun à toutes les formes d'autisme. Une des caractéristiques principales de cette pathologie est leur incapacité à comprendre et interpréter les comportements des autres (Baron-Cohen et al. 2001) et donc à interagir de façon appropriée. Pour les personnes touchées par le syndrome autistique, les indices sociaux qui coulent de source pour des personnes dites « normales », sont totalement incompréhensibles. Ainsi, ce qui a été suggéré comme faisant partie de compétences innées chez l'homme ne semble pas fonctionner chez les patients touchés par cette pathologie.

Ce comportement social inadapté résulte de dysfonctionnement au niveau de plusieurs composantes du comportement social comme notamment une diminution de l'attention portée aux stimuli sociaux (Osterling and Dawson 1994 ; Klin et al. 2006), un déficit du contact visuel (Ristic et al. 2005; Pelphrey et al. 2002), une incapacité à reconnaître les émotions (Pelphrey et al. 2002) et une impossibilité d'interprétation du comportement des personnes qui interagissent avec eux (Andari et al. 2010) (pour une revue détaillée concernant l'implication de l'ocytocine dans le comportement social des autistes voir ANNEXE 1).

Etant donné l'importance des déficits sociaux dans les syndromes de l'autisme et l'effet pro-social de l'ocytocine, les recherches se sont rapidement intéressées à l'implication de l'ocytocine dans cette pathologie tant au niveau étiologique qu'au niveau de son potentiel thérapeutique (ANNEXE 1).

2. Implication de l'ocytocine dans la pathologie de l'autisme

Altération du système ocytocinergique dans la pathologie de l'Autisme

Une des premières études s'intéressant à la relation entre le système ocytocinergique et la pathologie de l'autisme a été réalisée par Modhal et ses collaborateurs. Ces derniers ont évalué la concentration plasmatique d'ocytocine chez des enfants touchés par l'autisme et démontré que ces enfants possédaient significativement moins d'ocytocine plasmatique que des enfants considérés comme sains (Modahl et al. 1998), appuyant l'hypothèse que le système ocytocinergique serait altéré chez les individus touchés par l'autisme et pourrait ainsi faire partie intégrante de l'étiologie de ce trouble envahissant du développement. Ainsi, une autre étude a révélé que ce déficit d'ocytocine au niveau plasmatique chez les enfants autistes pourrait être la conséquence d'un dysfonctionnement dans la synthèse du peptide. En effet, l'augmentation de concentration d'ocytocine plasmatique est corrélée à une augmentation du

précurseur de l'hormone, suggérant un dysfonctionnement au niveau des étapes enzymatiques nécessaires à la production de l'hormone (Green et al. 2001). D'autres études ont confirmé ce déficit plasmatique de l'ocytocine chez les patients autistes (Jansen et al. 2006).

Par la suite, les scientifiques ont cherché les corrélats génétiques de ce dysfonctionnement ocytocinergique. Les investigations réalisées ont mis en évidence l'implication du gène codant pour le récepteur de l'ocytocine dans la symptomatologie de l'autisme (Lerer et al. 2007). La région du chromosome 3 où est localisé le gène codant pour le récepteur de l'ocytocine serait un locus susceptible d'être impliqué dans l'autisme (Ylisaukko-oja et al. 2006). Egalement, l'équipe de Jacobs a mis en évidence une association entre le gène du récepteur à l'ocytocine et les dysfonctionnements autistiques dans un petit échantillon d'une population caucasienne (Jacob et al. 2007). Enfin, une étude chez l'animal ayant eu recours à des manipulations génétiques a récemment montré que des souris knockout (KO) pour le récepteur à l'ocytocine présentent des déficits du comportement social similaires à ceux caractéristiques de la pathologie de l'autisme (Pobbe et al. 2012). En effet, ces souris KO passaient significativement plus de temps seul et montraient une diminution des comportements d'approche frontale et d'allo-grooming.

Effet de l'Administration d'ocytocine chez les patients Autistes : mise en évidence du potentiel thérapeutique de l'hormone

Par conséquent, les études physiologiques et génétiques confirmant l'hypothèse d'un système ocytocinergique déficient, il s'est posé la question de savoir si l'administration d'ocytocine chez les patients pouvait pallier à ces déficits (pour une revue sur le sujet voir (Bartz and Hollander 2008)). Dans ce contexte, l'équipe de Guastella a mis en évidence pour la première fois que l'administration d'ocytocine chez des jeunes adolescents touchés par l'autisme

augmentait leur performance au niveau de la reconnaissance des visages (Guastella et al. 2010), soulignant le potentiel thérapeutique de l'hormone.

Les études dans ce domaine se sont donc rapidement multipliées. Ainsi, la prise intranasale d'ocytocine a démontré pouvoir diminuer les comportements répétitifs des patients (Hollander et al. 2003) mais aussi augmenter leur capacité de compréhension du langage affectif (Hollander et al. 2007). Enfin, une étude réalisée dans notre équipe par Andari et al. a mis en évidence qu'après administration d'ocytocine, les patients Asperger interagissaient de façon adaptée avec leurs partenaire, semblant avoir été capable d'interpréter les signaux renvoyés par le comportement de ces derniers (Andari et al. 2010) (pour une revue détaillée concernant l'implication de l'ocytocine dans le comportement social des autistes voir ANNEXE 1).

Le rôle de l'ocytocine dans la pathologie de l'autisme est indéniable, cependant elle n'est pas le seul neurotransmetteur impliqué dans cette pathologie. Etant donné l'importance des neuromodulateurs dans de nombreux aspects du développement et du fonctionnement du cerveau, les chercheurs ont logiquement porté leur attention sur l'implication de ces derniers dans la pathologie de l'autisme (Pardo and Eberhart 2007). Ainsi, le déficit sérotoninergique est un des symptômes empiriques de cette pathologie, soulignant l'intérêt d'étudier la relation entre ocytocine et sérotonine dans le cadre de cette pathologie.

3. Dysfonctionnement sérotoninergique dans la pathologie de l'autisme

Les premières preuves de l'implication de la sérotonine dans la pathologie de l'autisme ont été découvertes en 1961. Les enfants touchés par l'autisme souffrent en effet d'hypersérotoninémie correspondant à une augmentation de la sérotonine plaquettaire (Chandana et al. 2005), symptôme qui a été répliqué dans plusieurs études (pour une revue complète voir (Zafeiriou et al. 2009)). Par conséquent, les investigations ont commencé à évaluer la capacité de synthèse

sérotoninergique dans le cerveau des enfants autistes grâce à l'utilisation de technique d'imagerie nucléaire par Tomographie par Emission de Positron (TEP). Ces études ont révélé des anomalies de synthèse au niveau cérébral de la sérotonine chez les enfants souffrant de troubles autistiques par rapport aux enfants ne présentant pas de troubles psychiatriques.

Chez l'homme sain, le cerveau subit des périodes d'intense synthèse sérotoninergique à un stade précoce de l'enfance. Durant cette période, la synthèse de sérotonine atteint plus de 200% de la capacité de synthèse sérotoninergique d'un cerveau adulte. Cependant cette caractéristique est endommagée voir absente dans le cerveau autiste (Chandana et al. 2005; Chugani et al. 2002). En considérant la forte implication de la sérotonine dans différents processus du développement cérébral, il a été suggéré que le dysfonctionnement précoce du système sérotoninergique pourrait être responsable des différentes anomalies centrales qui caractérisent l'autisme et que nous avons évoqués précédemment (Chugani et al. 2002).

Les scientifiques ont donc cherché là encore des causes génétiques à ces anomalies du système sérotoninergique. Les recherches ont révélé qu'une meilleure transmission de l'allèle courte (s) du gène codant pour le transporteur de la sérotonine (5-HTT) serait liée à la sévérité des déficits autistiques mais ne peut être considérée comme un facteur de risque du développement de l'autisme (Tordjman et al. 2001). Un polymorphisme du transporteur à la sérotonine semble aussi lié à une modulation anormale de la connectivité thalamo-cortical de la sérotonine ayant pour conséquence des anomalies de la perception sensorielle typiques de la pathologie (Chugani et al. 2002). Dans ce contexte, une récente étude en TEP a révélé une diminution générale du potentiel de liaison du 5-HTT chez 20 patients autistes par rapport au groupe contrôle et ceci associé aux déficits cognitifs et aux comportements compulsifs et obsessionnels des patients (Nakamura et al. 2010).

Egalement, des études ont mis en évidence une implication génétique des gènes codant pour les récepteurs à la sérotonine ainsi que de ceux codant pour des enzymes impliquées dans la synthèse du neurotransmetteurs (Zafeiriou et al. 2009).

Par la suite, les études se sont logiquement intéressées à l'utilisation thérapeutique de la sérotonine. L'utilisation des inhibiteurs de la sérotonine (Serotonin Selective Reuptake Inhibitor, SSRI), déjà utilisés dans d'autres pathologies comme la dépression, a été préconisée. Ainsi, ces derniers ont commencé à être couramment prescrits dans la pathologie de l'autisme (Langworthy-Lam et al. 2002), les résultats des recherches dans ce domaine restent controversés. En effet, la plupart du temps l'utilisation des SSRI est souvent accompagnée d'effets secondaires comme l'hyperactivité, l'agressivité et les pensées suicidaires (pour une revue complète se référer à (West et al. 2009)). Ces effets controversés pourraient être dûs à la nécessité d'avoir un équilibre optimal de la sérotonine. Il a été démontré que durant la synaptogénèse une déplétion de sérotonine altère le développement de la barrière hématoencéphalique alors qu'une augmentation du niveau de sérotonine entraînent des dommages de l'arborisation axonale (Chugani et al. 2002). En d'autres termes il ne faut ni trop, ni trop peu de sérotonine.

Etant donné que les deux systèmes ocytocinergique et sérotoninergique sont déficients dans la pathologie de l'autisme, les perturbations de ces deux systèmes pourraient-ils être liés ?

Un model chez le rat a révélé que l'hypersérotoninémie durant le développement foetal entraîne une perte des terminaux sérotoninergiques, des changements au niveau des récepteurs sérotoninergiques attestant d'un développement anormal du cerveau ainsi que l'altération de régions cérébrales essentielles au traitement des émotions : l'amygdale et l'hippocampe. De façon extrêmement intéressante, ces rats présentaient également une altération du système ocytocinergique, caractérisée par une perte des cellules ocytocinergiques de l'hypothalamus

suite à des manipulations prénatales induisant une hypersérotoninémie chez le rat (Whitaker-Azmitia 2005). L'impact de ce dysfonctionnement sérotoninergique sur le système ocytocinergique renforce l'idée d'une relation étroite et réciproque entre ces deux neurotransmetteurs.

A l'inverse aucune étude ne s'est encore intéressée à l'influence que pourrait avoir l'ocytocine sur l'activité sérotoninergique centrale des patients autistes. Il nous semble ainsi capital de répondre à cette question. Par conséquent, de la même manière que chez le sujet sain, nous avons voulu investiguer l'effet de l'administration de l'ocytocine sur le système sérotoninergique des patients à travers la réalisation d'une étude en TEP utilisant le MPPF, radio-traceur spécifiques des récepteurs 5-HT_{1A} de la sérotonine. L'intérêt de l'étude est donc double car, à notre connaissance, aucune étude n'a investigué l'état du système des récepteurs 5-HT_{1A} de la sérotonine dans l'autisme (Partie 2, Chapitre 2 p. 155).

F. Objectifs de l'étude

Comme, nous l'avons démontré tout au long de cette introduction, l'implication de l'ocytocine au niveau de différents aspects et mécanismes de notre comportement social est aujourd'hui indéniable. Un enthousiasme important et une euphorie particulière entourent les recherches mettant en évidence le potentiel thérapeutique du neuropeptide. Ainsi l'ocytocine représente un réel espoir pour toutes les familles touchées par des troubles psychiatriques comme la dépression, l'anxiété et la phobie sociale ainsi que l'autisme. Néanmoins, malgré de grandes avancées dans la connaissance de la neurophysiologie et des mécanismes de l'hormone, l'action de l'ocytocine dans notre cerveau est encore loin d'être complètement élucidée. Or, mieux connaître les mécanismes neuronaux qui sous-tendent les effets de l'hormone semble être indispensable et nécessaire afin de développer des nouvelles stratégies de recherche thérapeutique.

En conséquence, le travail de cette thèse tente d'apporter des réponses à quelques questions clés encore non élucidées portant sur l'implication de l'ocytocine dans la physiologie de notre comportement social et d'une des pathologies majeurs qui en découle : l'Autisme.

Nous avons choisi de diviser ce travail en deux parties : i) Dans la première partie de la thèse (Partie 1, page 55) nous nous intéresserons particulièrement à la place de l'hormone dans la physiologie du comportement social afin de déterminer si l'ocytocine ne pourrait pas être considérée comme un bio marqueur de la sociabilité des individus et donc à plus long terme de la pathologie de l'autisme. ii) Dans la deuxième partie de l'étude (Partie 2, page 133) nous nous sommes intéressés à la relation liant l'ocytocine à d'autres neuropeptides majeurs du comportement social: la sérotonine chez le sujet sain et le patient autiste. Nous pensons en effet que cette interaction pourrait avoir un rôle capital dans le comportement social et devrait être pris en compte dans l'élaboration des nouvelles stratégies thérapeutiques.

1. L'ocytocine constitue-t-elle la base neurophysiologique de notre comportement social ?

La plupart des connaissances sur l'implication de l'ocytocine dans notre comportement social proviennent d'études ayant évalué l'effet de l'administration de l'ocytocine sur différents aspects de notre comportement social. L'ensemble de ces travaux a permis de définir l'ocytocine comme étant le neuropeptide du cerveau social. Cependant, on sait encore peu de choses sur la relation physiologique directe liant l'ocytocine à notre comportement et notre personnalité sociale.

En effet, étant donné l'implication de l'ocytocine et son rôle bénéfique dans tous les aspects qui sous-tendent le comportement social, nous nous sommes posés plusieurs questions auxquelles nous tenterons d'apporter des éléments de réponse :

- i) Tout d'abord existerait-il un lien physiologique direct entre les concentrations d'ocytocine et notre personnalité sociale ?(Partie 1, Chapitre 1 page 55)**
- ii) l'ocytocine pourrait-elle influencer la perception que nous avons de notre propre sociabilité (Partie 1, Chapitre 2, page 78).**
- iii) Enfin, comme la plupart des études comportementales nous partons du postulat que l'ocytocine périphérique pourrait être représentative de l'activité ocytocinergique centrale. Cependant, aucune étude chez l'homme n'ayant clairement établi cette relation en prélevant de l'ocytocine directement au niveau du cerveau, nous avons cherché à a) établir l'existence ou non d'une relation entre ocytocine périphérique et ocytocine cérébrale b) savoir si les corrélations trouvées au niveau plasmatique entre ocytocine et niveau d'extraversion des sujets se retrouvent au niveau central (Partie 1, Chapitre 3, page 90).**

L'ocytocine serait-elle à la base de la neurophysiologie de notre comportement social ?

Comme nous l'avons déjà évoqué l'homme pourrait être défini comme un animal social. Cependant, il existe des différences inter-individuelles et nous n'avons pas tous le même degré de sociabilité. Ainsi, dans un groupe de sujets sains, certains individus seront de nature extrêmement extravertie et très à l'aise au sein d'un groupe, alors que d'autres seront beaucoup plus timides et resteront plus en retrait.

Les études ayant mis en évidence que sous ocytocine les individus augmentaient leurs facultés sociales, nous faisons l'hypothèse que les individus plus extravertis posséderaient significativement plus d'ocytocine plasmatique par rapport aux personnes de nature plus timide.

Par conséquent, la personnalité des sujets sera évaluée grâce à la passation d'un questionnaire robuste de la personnalité : le NEO PI-R et l'ocytocine plasmatique sera dosée à partir de prélèvements sanguins effectués sur les sujets.

Nous supposons que les personnes ayant des scores plus importants au domaine Extraversion du NEO PI-R, qui détermine la préférence des sujets à être en groupe, posséderont un taux plus important d'ocytocine plasmatique.

En accord avec notre hypothèse, une étude réalisée par Winslow et ses collaborateurs chez le singe a mis en évidence que les individus passant significativement plus de temps seul possédait un taux faible d'ocytocine au niveau du fluide cébrospinal (CSF) par rapport à leurs congénères passant la majeure partie de leur temps en groupe (Winslow et al. 2003).

Dans un deuxième temps, nous faisons l'hypothèse que s'il existe bien une relation entre l'ocytocine et la personnalité sociale des individus, celle-ci devrait être répercutée au niveau

central plus particulièrement sur les structures clés du comportement social cibles de l'ocytocine : l'amygdale et l'hippocampe (Kirsch et al. 2005; Ralph Adolphs 2003a).

Par conséquent, notre étude comportementale sera doublée d'une étude en imagerie par résonance magnétique (IRM) afin de déterminer s'il existe une corrélation entre l'ocytocine plasmatique, le volume et la morphologie des structures cérébrales.

Si comme nous le pensons il existe une réelle relation physiologique entre l'ocytocine, la personnalité sociale des sujets et les structures cérébrales impliquées, l'ocytocine pourrait être définie comme un véritable biomarqueur de la personnalité sociale. Ainsi si l'ocytocine se trouve être à la base de notre comportement social, ne pourrait-elle pas non plus déterminer la perception sociale que nous avons de nous-même.

L'ocytocine peut-elle influencer la perception sociale que nous avons de nous-même ?

Si l'effet de l'ocytocine au niveau comportemental est aujourd'hui avéré, peu d'études ont testé l'influence de l'ocytocine sur notre propre sentiment de sociabilité.

L'ocytocine est connue pour développer un comportement de confiance envers autrui (Kosfeld et al. 2005). Nous avons voulu évaluer l'effet de l'ocytocine sur la perception que nous avons de notre propre sociabilité en dehors de tout contexte social. La perception que nous avons de nous-même est un élément clé et capital d'un comportement social adapté. Si l'ocytocine pouvait influencer l'image que nous avons de nous-même, celle-ci pourrait donc être à l'origine de la nature de notre comportement social.

Par conséquent, dans une étude réalisée en double aveugle et randomisée, nous allons évaluer l'effet de l'ocytocine sur les scores obtenus au questionnaire NEO PI-R chez le sujet sain.

Nous faisons l'hypothèse que l'ocytocine pourrait influencer et augmenter notre sentiment de sociabilité. C'est-à-dire que nous suggérons qu'après ocytocine, les personnes se sentiraient beaucoup plus extraverties et donc augmenteraient leurs scores au NEO PI-R relatif à cet aspect de notre personnalité sociale.

Comme la plupart des études comportementales et physiologiques sur l'ocytocine, nous supposons que l'évaluation de l'ocytocine périphérique reflèterait l'activité du système ocytocinergique au niveau central. Cependant, les données dans ce domaine sont très controversées ce qui nous a conduit à réaliser la deuxième étude de cette première partie.

Existe-t-il une corrélation entre ocytocine périphérique et centrale, relation avec la personnalité sociale ?

A ce jour, aucune étude n'a clairement démontré de corrélation entre ocytocine périphérique et ocytocine centrale chez l'homme. Cependant toutes ces études ont dosé l'ocytocine du LCR à partir de prélèvements obtenus par ponction lombaire. Ainsi, il n'est pas certain que la concentration d'ocytocine du LCR prélevé au niveau lombaire soit identique à celle du LCR qui serait prélevé directement dans le cerveau.

Par conséquent, afin de tenter de clarifier ces questions encore en suspens, nous effectuerons des prélèvements de LCR directement au niveau du cerveau, afin d'établir la concentration centrale d'ocytocine. Simultanément, des prélèvements plasmatiques seront réalisés, afin de vérifier s'il existe une corrélation entre les concentrations centrales et périphériques d'ocytocine. Cette étude pourra être réalisée que grâce à une collaboration avec le service de neurochirurgie B de l'hôpital neurologique Pierre Wertheimer de Lyon.

Nous faisons l'hypothèse que les concentrations d'ocytocine au niveau cérébral seraient corrélées avec les concentrations périphériques de l'ocytocine.

Afin d'évaluer la personnalité sociale des patients, nous leur feront remplir le questionnaire de personnalité NEO PI-R afin de i) vérifier l'existence chez nos patients de la corrélation entre le taux d'ocytocine plasmatique des individus et leurs scores au domaine d'Extrversion du NEO PI-R ii) savoir si la corrélation entre personnalité sociale et ocytocine périphérique se retrouve également au niveau central. C'est-à-dire si la concentration d'ocytocine centrale corrèle aussi avec la nature extravertie de nos patients.

Si l'ocytocine fait comme nous le pensons partie intégrante de la physiologie de notre personnalité sociale, nous supposons que des corrélations entre personnalité sociale existant au niveau périphérique, elles devraient être également présentes au niveau central.

En accord avec nos hypothèses, une étude a ainsi mis en évidence d'une part que une corrélation négative entre ocytocine périphérique et les tendances suicidaires de patient et d'autre part que la même corrélation entre ocytocine et tendance suicidaire existe aussi au niveau du LCR (Jokinen et al. 2012).

Cette étude, en étant une des premières a effectué des dosages d'ocytocine chez l'homme directement au niveau cérébral, permettra de finaliser l'étude de la physiologie de l'ocytocine ainsi que de la personnalité sociale.

L'ensemble des études de cette première partie a pour but de préciser la place importante de l'ocytocine dans la physiologie de la personnalité sociale. En effet, si les concentrations d'ocytocine sont corrélées à notre personnalité sociale, il serait donc par la suite possible d'évaluer à partir de taux d'ocytocine plasmatique, la nature sociale d'un individu. Ceci

représente d'autant plus d'intérêts que si l'ocytocine peut être considérée comme un biomarqueur du comportement social, elle pourrait donc être utilisée dans le cadre de dépistage précoce de pathologie sociale comme l'autisme.

2. Existe-t-il une relation entre l'ocytocine centrale et les autres neuromédiateurs, e.g. la sérotonine

Comme nous l'avons précédemment évoqué la sérotonine (comme l'ocytocine), est impliquée dans de nombreux aspects du fonctionnement de notre organisme ainsi que dans l'étiologie de nombreux troubles psychiatriques comme la pathologie de l'autisme.

L'interaction entre ces deux neuromodulateurs pourrait donc s'avérer capitale et primordiale pour le développement d'un comportement social adapté.

Si l'influence de la sérotonine sur le système ocytocinergique est aujourd'hui bien connue, peu d'études se sont intéressées à l'action de l'ocytocine sur le système sérotoninergique et aucune n'a encore évalué l'influence de l'ocytocine sur l'activité centrale de la sérotonine chez l'homme.

Par conséquent, dans une étude réalisée en double aveugle nous avons évalué l'effet de l'ocytocine sur l'activité centrale du système sérotoninergique grâce à l'utilisation d'une technique d'imagerie de pointe la Tomographie par Emission de Positron (TEP) en utilisant un radio-traceur spécifique du récepteur 5-HT_{1A} de la sérotonine : le [18F]MPPF.

La sérotonine est capable d'influencer de nombreux aspects du fonctionnement de notre organisme en agissant à travers ses multiples et nombreux récepteurs (pour une revue complète voir (Fink and Göthert 2007; Barnes and Sharp 1999). Nous avons choisi d'évaluer l'effet de l'ocytocine sur la sérotonine à travers le récepteur 5-HT_{1A} car ce dernier est localisé dans des

régions clés de notre comportement social et impliqué dans les pathologies associées (Peroutka et al. 1995).

Cette étude a été réalisée en collaboration avec le CERMEP, centre d'imagerie du vivant à Lyon et sera conduite dans un premier temps chez le sujet sain puis chez le patient autiste plus particulièrement Asperger.

L'ensemble des sujets participants à l'étude (sujets sains et patients) passeront deux examens TEP : l'un afin d'évaluer l'état basal du système sérotoninergique, l'autre afin de mesurer l'effet de l'ocytocine sur la sérotonine. Afin d'éviter tous biais dus à une différence de sexe entre les individus, uniquement des hommes ont pris part à cette étude.

L'ocytocine est-elle capable d'influencer l'activité centrale de la sérotonine chez le sujet sain ?

Nous avons choisi de mesurer l'activité sérotoninergique à travers le récepteur 5-HT_{1A} situé dans des régions clés de notre comportement social. En effet celui-ci est largement localisé au niveau du raphé (lieu de synthèse de la sérotonine), de l'amygdale et de l'hippocampe, du cortex cingulaire antérieur et des régions du cortex préfrontal (Costes et al. 2005; Varnäs et al. 2004). Ces régions font partie intégrante du cerveau social que nous avons précédemment évoqué et sont connues pour être également cibles de l'action ocytocinergique.

Nous faisons ainsi l'hypothèse que l'ocytocine entrainera dans ces régions ciblées par les 2 systèmes de neurotransmetteurs une modification de l'activité sérotoninergique illustrée par une variation de potentiel de liaison des récepteurs 5-HT_{1A}.

Etant donné le déficit du potentiel de liaison du récepteur 5-HT_{1A} caractérisé dans de nombreuses pathologies comme l'anxiété social ou encore la dépression, *nous attendons une augmentation du potentiel de liaison du MPPF (représentatif du potentiel de liaison du récepteur 5-HT_{1A}).*

Nous sommes ainsi convaincu qu'il existe une relation étroite entre ces deux poids lourds de la chimie cérébrale et que celle-ci pourrait s'avérer cruciale dans une pathologie sociale comme l'autisme d'où la deuxième partie de cette étude.

Y a-t-il un lien entre ocytocine, sérotonine et autisme ?

L'autisme est en effet une pathologie caractérisée par un dysfonctionnement des systèmes sérotoninergique et ocytocinergique.

Ainsi ces patients démontrent par rapport à des individus « contrôle » un système sérotoninergique altéré caractérisé notamment par une réduction significative du transporteur à la sérotonine. Cependant, bien que le 5-HT_{1A} soit suggéré comme pouvant jouer un rôle dans cette pathologie car étant largement présent dans des zones cérébrales dont le fonctionnement est altéré chez ces patients, aucune étude n'a, à notre connaissance, encore étudié si ce système de récepteur était altéré dans le cadre de pathologie du spectre autistique par une étude en TEP chez l'homme.

Néanmoins, des études réalisées chez la souris grâce à des manipulations génétiques ont révélé que des animaux KO pour le récepteur 5-HT_{1A} présentaient des troubles du comportementaux similaires à ceux de l'autisme.

Par conséquent, nous faisons l'hypothèse que les patients touchés par le syndrome d'Asperger pourraient démontrer un système 5-HT_{1A} altéré, illustré par une diminution du potentiel de liaison du récepteur et donc du MPPF BP_{ND} (Binding potential, littéralement potentiel de liaison).

Dans un deuxième temps nous pensons que l'ocytocine influencerait le système sérotoninergique et pourrait atténuer ces différences entre sujets sains et patients. ***Par conséquent, nous faisons l'hypothèse que l'ocytocine supprimerait les différences***

significatives du potentiel de liaison du récepteur 5-HT_{1A} entre les patients (après ocytocine) et les sujets sains (à l'état basal).

En conclusion, cette deuxième partie du travail de thèse devrait dans un premier temps permettre de mieux comprendre l'action de l'ocytocine au niveau central chez l'homme par l'intermédiaire de son interaction avec un autre neuromodulateur. Enfin, nous espérons que cela apportera de nouvelles connaissances primordiales des mécanismes qui sous-tendent le comportement social et permettra de mettre en place des nouvelles stratégies thérapeutiques efficaces prenant en compte l'interaction entre ces deux neuromodulateurs.

La finalité de cette thèse est donc de définir si l'ocytocine pourrait être considérée comme biomarqueur du comportement social et donc à long terme pouvoir servir dans le diagnostic de désordres psychiatriques caractérisés par des troubles du comportement social. De plus, ce travail vise à mieux comprendre l'action centrale de l'ocytocine par l'intermédiaire de son influence sur la sérotonine chez le sujet sain et le patient autiste, et ce afin de pouvoir ouvrir la porte à de nouvelles pistes de recherches thérapeutiques prenant en compte la relation entre ces deux neurotransmetteurs.

PREMIERE PARTIE :
L'OCYTOCINE CONSTITUE-T-ELLE LA BASE
NEUROPHYSIOLOGIQUE DE NOTRE
PERSONNALITE SOCIALE ?

RAPPEL DES QUESTIONS POSEES DANS CETTE PARTIE

CHAPITRE 1 : L'OCYTOCINE SERAIT-ELLE DIRECTEMENT LIEE A LA NEUROPHYSIOLOGIE DE NOTRE PERSONNALITE SOCIALE ?

Questions posées : Existe-t-il une relation physiologique entre l'ocytocine plasmatique et la personnalité sociale des sujets ? Cette relation se répercute-t-elle aussi au niveau central ?

Méthode employée : Dosage plasmatique de l'ocytocine des sujets / évaluations de la personnalité sociale des volontaires par le questionnaire du NEO PI-R / Etude de la morphologie cérébrale par IRM.

Hypothèses : Les personnes plus extraverties possèderaient plus d'ocytocine et cette différence se répercuterait au niveau des structures cérébrales cibles de l'ocytocine : l'amygdale et l'hippocampe

CHAPITRE 2 : L'OCYTOCINE PEUT-ELLE INFLUENCER LA PERCEPTION SOCIALE QUE NOUS AVONS DE NOUS-MEME ?

Questions posées : L'ocytocine est-elle capable d'influencer la perception sociale que nous avons de nous-même ? Cet effet serait-il lié à la physiologie du système ocytocinergique des individus ?

Méthode employée : Evaluation par une étude en double aveugle de l'influence de l'ocytocine sur la personnalité sociale des individus mesurée par le NEO PI-R.

Hypothèse : Nous supposons que l'administration d'ocytocine va modifier les scores des sujets obtenus au NEO PI-R et ce particulièrement au niveau des domaines et facettes du questionnaire relatifs à la personnalité sociale des sujets. Nous supposons que l'effet de l'ocytocine pourrait être différent en fonction de la concentration plasmatique d'ocytocine des individus.

CHAPITRE 3: EXISTE-T-IL UNE CORRELATION ENTRE OCYTOCINE PERIPHERIQUE ET CENTRALE ? CETTE DERNIERE SERAIT-ELLE AUSSI DIRECTEMENT LIEE A NOTRE PERSONNALITE SOCIALE ?

Questions posées : Existe-t-il une corrélation entre les concentrations d'ocytocine plasmatique et centrale ? Si la corrélation entre concentration d'ocytocine plasmatique et centrale est avérée, la corrélation entre ocytocine plasmatique et Extraversion est-elle transposable au niveau central ?

Méthode employée : Dosage de l'ocytocine simultanément au niveau central (prélèvement du LCR directement au niveau du cerveau) et périphérique lors d'une intervention de neurochirurgie. Evaluation de la personnalité sociale des patients par le NEO PI-R.

Hypothèse : Nous supposons l'existence d'une corrélation entre les concentrations centrales et périphériques d'ocytocine. Nous attendons une corrélation entre ocytocine et personnalité sociale tant au niveau périphérique qu'au niveau central.

BUT DE L'ETUDE : Cette partie de notre travail vise à déterminer l'importance de l'ocytocine au niveau de la physiologie du comportement social et définir si l'ocytocine pourrait être un biomarqueur de la personnalité sociale.

A. CHAPITRE 1: L'OCYTOCINE SERAIT-ELLE DIRECTEMENT LIEE A LA NEUROPHYSIOLOGIE DE NOTRE PERSONNALITE SOCIALE ?

Article publié :

Oxytocin's Fingerprint in Personality Traits and Regional Brain Volume

Elissar Andari , Fabien C. Schneider, **Raphaëlle Mottolese**, Philippe Vindras, Angela Sirigu

Cerebral Cortex. 2012

Présentation et Résumé de l'étude

Les dernières années de recherche ont mis en évidence l'importance de l'ocytocine (OT) dans le comportement social. Néanmoins, la plupart des connaissances sur l'implication de l'OT au niveau de notre sociabilité découlent d'études ayant utilisé l'administration intranasale d'OT. Peu d'études ont réellement étudié la relation physiologique entre l'OT et la personnalité sociale des individus. Partant de ce constat, nous nous sommes alors posé la question suivante : Si la prise d'OT favorise l'expression de notre comportement social, ne pourrait-elle pas faire partie intégrante de la physiologie sociale des individus ? En effet, si comme nous l'avons vu l'homme est un animal social, interagir avec les autres est plus ou moins facile selon les individus. Nous faisons alors l'hypothèse que les individus de nature plus extravertie posséderaient un taux plus élevé d'OT plasmatique. Egalement, si cette relation entre OT plasmatique et la personnalité sociale est avérée, ne peut-elle pas se refléter aussi au niveau central, et plus particulièrement au niveau de régions clés du comportement social et cibles de l'OT ? En accord avec nos hypothèses, cette étude a permis de mettre en évidence que les personnes ayant des scores plus élevés d'Extraversion (évalués grâce à un questionnaire robuste de la personnalité : le NEO PI-R) possédaient aussi un taux d'OT plasmatique plus important (dosages réalisés à partir d'échantillons de sang des sujets). Nous avons combiné cette étude comportementale à une étude d'Imagerie par Résonance Magnétique (IRM) qui a permis de mettre en évidence l'existence d'une corrélation négative entre l'OT plasmatique ainsi que l'extraversion des individus et le volume de l'amygdale et de l'hippocampe, deux structures importantes du comportement social et connues pour être ciblées par l'action de l'OT. Cette première étude démontre que l'OT semble être à la base de la physiologie de notre comportement sociale puisque le niveau d'ocytocine corrèle d'une part avec la nature sociale des individus et d'autre part avec la morphologie des structures cérébrales impliquées dans le comportement social. Ces résultats suggèrent que l'ocytocine pourrait être définie comme un véritable biomarqueur de la personnalité sociale

Oxytocin's Fingerprint in Personality Traits and Regional Brain Volume

Elissar Andari, Fabien C. Schneider, **Raphaëlle Mottolese**, Philippe Vindras, Angela Sirigu
Cerebral Cortex 2012

1. Abstract

Oxytocin has a fundamental role in social behavior. In humans, supporting evidence shows that oxytocin enhances people's ability to trust or affiliate with others. A key question is whether differences in plasma oxytocin concentration in humans are related to people's differences in their social traits of personality and if such differences are reflected in the structural organization of brain areas responsive to the action of this hormone. We examined the correlation between oxytocin plasma levels and personality traits in 30 healthy subjects, tested with the Inventory NEO-PI-R. By using the Voxel Based Morphometry technique (VBM), we also investigated changes in gray matter volume as a function of plasma oxytocin level and NEO-PI-R scores. A positive correlation was found between plasma oxytocin and Extraversion scores, a dimension that captures social affiliative tendencies. Moreover, we found an inverse correlation between plasma oxytocin and the volume of the right amygdala and the right hippocampus, two brain areas implicated in fear and anxiety. Finally, we showed that the amygdala-hippocampal complex correlate negatively with Extraversion scores. Our findings provide evidence for a neural mechanism linking physiological oxytocin variability and structural variation of brain regions relevant for emotion regulation to individual differences in affiliative personality traits.

Key words: *amygdala, plasma oxytocin, hippocampus, personality, regional brain volumes.*

2. Introduction

Social interactions are a source of positive and negative experience which both shape people's personalities. Much evidence has accumulated implicating the neuropeptide oxytocin in a variety of behaviors important for social adaptation such as maternal care, affiliation, pair bonding and social learning (Pedersen et al. 1982; Insel and Hulihan 1995). In humans, it is known, for instance, that oxytocin intake induces people to express more trust in others (Kosfeld et al. 2005), increases emotion reading (Domes et al. 2007), generosity (Zak et al. 2007), memory for face (Savaskan et al. 2008) and eye contact (Guastella et al. 2008). Oxytocin is also known for its role in reducing feelings of stress and anxiety (McCarthy et al. 1996; Yoshida et al. 2009). The oxytocinergic system targets brain regions important for emotion regulation such as amygdala, hippocampus and brainstem (Lee et al. 2009). However, the aforementioned studies of exogenous oxytocin's effects on social cognition did not account for individual variability in endogenous oxytocin plasma levels. Low levels of plasma oxytocin have been found in patients with autism, a psychiatric disorder of social behavior (Modahl et al. 1998; Andari et al. 2010). Conversely, high oxytocin plasma levels have been associated with trust (Zak et al. 2005), positive parenting styles (Gordon et al. 2010) and perception of a better quality of life (Light et al. 2005). We may speculate that these prosocial behaviors associated with higher levels of oxytocin reflect individuals' social tendencies and personalities. An important question is whether the level of endogenous oxytocin can be a biomarker of the degree of engagement of individuals in their social life. Indirect support for this idea comes from animal research. For instance, contrary to solitary montane voles, prairie voles show high levels of affiliation associated with highest density of oxytocin receptors in areas crucial for reward processing (Insel and Shapiro 1992; Olazabal and Young 2006). In macaques, the highly affiliative Bonnet species has higher oxytocin levels in the cerebrospinal fluid than the less sociable Pigtail macaques (Rosenblum et al. 2002). Finally, a very recent study in tamarins

species shows that baseline plasma levels of oxytocin are highly correlated with the degree of affiliation contact and sexual behavior (Snowdon et al. 2010). Although social relationships are arguably far more complex in humans than in other species, oxytocin levels may nevertheless be related to our social responses and our personality traits. This may in turn be reflected in the structure of brain areas targeted by oxytocin action.

It has been proposed that oxytocin favors attachment and social cooperation by reducing fear and stress generated by social proximity (McCarthy *et al.* 1996; Andari *et al.* 2010). In line with this idea, it has been shown that oxytocin has an action on the activity of the amygdala (Huber et al. 2005), a brain region involved in fear response and detection of negative cues (Adolphs et al. 2005). Converging fMRI results show that oxytocin administration attenuates amygdala activity during prosocial behaviors or perception of emotional faces (Kirsch et al. 2005; Domes et al. 2007; Baumgartner et al. 2008; Petrovic et al. 2008). More recent findings have demonstrated that oxytocin's action on the amygdala is not exclusively inhibitory and limited to aversive stimuli. For instance, although oxytocin reduces amygdala activity during the classification of fearful faces, it also increases activation in another amygdala sub-region when subjects classify happy faces or shift their gaze toward the eye region regardless of the emotional valence (Gamer et al. 2010). Hence, it seems that oxytocin differentially modulates the activity of distinct amygdala sub-regions in accordance with the stimulus valence or its social saliency. Another area targeted by oxytocin's action is the hippocampus, a region well known for memory processes but also involved in the regulation of anxiety (Fanselow and Dong 2010). For instance, administration of oxytocin in the hippocampus attenuates freezing behavior of stressed rats (Barkus et al. 2010).

The sensitivity of the amygdala and hippocampus to social information is further supported by the functional and structural implication of these regions in the pathophysiology of autism (Critchley et al. 2000; Groen et al. 2010). In addition, the link between functional and structural amygdala variability and social personalities has been addressed in the recent literature.

Amygdala functional responses to positive stimuli have been found to correlate with subjects' level of extraversion (Canli et al. 2002). At the structural level, while some studies have reported a positive correlation between extraversion and amygdala volume (Cremers et al. 2011), others have instead found a negative one (Forsman et al. 2012) or no correlation at all (Wright et al. 2006). A possible explanation for such divergent results can be ascribed to the different contributions played by distinct amygdala sub-nuclei in social processing, which may have been overlooked in past investigations. For instance, the lateral ventral amygdala is implicated in the processing of negative social outcomes whereas the dorsal sector has been associated with social learning and vigilance (Davis et al. 2010). Hence, different functions of the amygdala such as fear reduction, prosocial behavior, stimulus saliency and social learning (Adolphs 2010) can be differentially processed in distinct sub-nuclei of amygdala. Moreover, different functions of the hippocampus such as memory and anxiety are also differentially related to the dorsal and the ventral regions respectively (Fanselow and Dong 2010). Thus, oxytocin may have a differential action depending on the targeted region within the amygdala/hippocampus complex.

Overall these findings highlight the role of oxytocin in shaping social behavior and in modulating key brain regions implicated in emotional processes and human personalities. They also suggest a possible link between plasma and brain oxytocin concentrations and the possibility that these two systems modulate the behavior in a coordinated manner.

In this study, we asked whether plasma oxytocin concentration is linked with people's social engagement and individual personality traits. We also reasoned that individual variability in oxytocin plasma levels and social personalities can be associated with structural changes of brain areas targeted by oxytocin's action. By using a robust standardized personality test, the Revised NEO Personality Inventory (Costa et al. 1992), and Voxel Based Morphometry analysis (VBM), we examined the correlation between plasma oxytocin levels, personality traits and brain volume. First, we hypothesize that two dimensions, namely, Extraversion and

Agreeableness will correlate with plasma oxytocin given their implications in social affiliative tendencies and prosocial feelings respectively. In agreement with previous results showing a facilitatory effect of oxytocin on social behavior (Insel et al. 2010), we speculate that in individuals with high levels of plasma oxytocin (as compared to those with low plasma oxytocin levels), social contexts may be more salient and positively arousing, and this would be associated with higher scores for Extraversion and Agreeableness, the dimensions that best capture social behavior influenced by oxytocin. Second, we hypothesize that individual variability in plasma oxytocin and in sociality will be associated to structural differences in sub-regions of the amygdala and hippocampus complex, sub-regions which are relevant for oxytocin's action in fear and anxiety reduction.

3. Materials and Methods.

Participants

Thirty French native speaker healthy subjects randomly selected at the University of Lyon 1 (17 men and 13 women, mean age 23.57 ± 3.70 , range 18-37, mean years of education 16.47 ± 2.42 range: 9-20), without history of brain injury or psychiatry disorder (as assessed by a psychiatrist through clinical interview), participated in this study. Exclusion criteria were pregnancy, medication, drug or alcohol abuse and smoking (at present and during the past 6 months). Participants gave a written consent to participate in the study which was approved by the Local Ethical Committee (Centre Léon Bérard, Lyon IV).

Behavioral measure

The Revised NEO Personality Inventory (Costa *et al.* 1992) assesses five core personality dimensions: *Extraversion* (tendency to enjoy human interactions, enjoy time spent with people and find less reward in time spent alone), *Neuroticism* (tendency to experience negative emotions, emotional instability), *Openness* (active imagination, aesthetic sensitivity, intellectual curiosity), *Agreeableness* (tendency to be compassionate and cooperative), *Conscientiousness* (tendency to show self-discipline, act dutifully, and aim for achievement).

Physiological measure

Blood samples were collected at the Neurological Hospital in Lyon and frozen within 15 minutes. Plasma was separated by centrifugation at 2000 x g (for 10 min at 4°C), then stored in a freezer at -70°C until assay. The centrifugation and the storage of EDTA tubes were conducted at Neurobiotec Center in Lyon Neurological Hospital. The analysis of immuno-reactive oxytocin in the plasma was performed by the University Center of Immunology and Neuroendocrinology in Liège (Belgium). Prior to assay procedure, plasma samples were filtered on Centricon YM-3 (cut-off 3000 Da, Millipore, USA) to get rid of interfering plasma proteins. After filtration, plasma oxytocin assay was performed using specific enzyme-immunoassay (Péqueux *et al.* 2001, Andari *et al.* 2010). All participants had the blood tests at the same time (10 a.m) and same experimental conditions. Plasma oxytocin levels have been found to be stable in individuals across specific time periods such as the first months of parenthood (Gordon *et al.* 2010). Also, longitudinal studies have established that changes in plasma oxytocin concentration are relatively small in magnitude during pregnancy and postpartum periods (Chatterton *et al.* 2000; Levine *et al.* 2007).

Hence, we controlled the time of blood withdraw, the age and the level of education to reduce inter-individual variability.

MRI acquisition and analysis

Participants were scanned using a 1.5-T MRI scanner (Siemens Magnetom Sonata) located at the nearby Imagery Center (CERMEP Lyon). Images were acquired using a sagittal 3D T1-weighted MPRAGE sequence (field of view 256-mm, matrix 256x256, TR/TE/FA 1970ms/3.93ms/20°, slice thickness 1 mm). Participants structural images were preprocessed with SPM2 (<http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/software/spm2/>) according to the optimized voxel-based morphometry protocol (Good et al. 2001). First, a customized anatomical template was created based on the brain of each participant by averaging the images with an optimized VBM script. A spatial normalization of the anatomical images was performed using the ICBM (international consortium for brain mapping) stereotactic space, and 12-parameter affine transformations. The normalized images were then segmented into grey and white matter. Non-brain tissues were removed using a priori template. Mean images of the normalized T1-weighted and tissues volumes were then created and smoothed with a gaussian kernel of 8mm full-width half maximum. In the second normalization step, a 12-parameter affine transformation was used to match the native anatomical T1-weighted images to the customized template and refine by using 16 non linear iterations (medium regularization and a 25mm cutoff). Finally, tissue images were smoothed with a gaussian kernel of 8mm full-width half maximum. The ‘anatomy toolbox’ (Eickhoff et al. 2005) was used to generate a ROI for the amygdala and hippocampus bilaterally using a cytoarchitectonic probability maps. These maps correspond to the most likely anatomical area at each voxel of the MNI single subject template based on probabilistic cytoarchitecture maps derived from a sample of 10 human post-mortem brains. The amygdala ROIs comprises the centromedial (CM, including the central and medium nuclei), superficial (SF, including the anterior amygdala area, ventral, and posterior cortical nuclei), and laterobasal groups (LB, including the lateral, basolateral, basomedial, and paralaminar nuclei) of nuclei (Amunts et al. 2005). In addition to the anatomy toolbox

methodology, we used Marsbar toolbox to perform a further anatomical parcellation of the laterobasal and dorsal amygdala (Davis *et al.* 2010).

Statistics

The plasma oxytocin levels we obtained had a non-gaussian bimodal distribution. Specifically, half of the subjects had high levels of plasma oxytocin (above 4.5 pg/ml) and one third had low levels (<2 pg/ml), while few subjects had intermediate values between 2 and 4.5 pg/ml (Figure 1). Following this, we performed non-parametric correlations between oxytocin and personality dimensions, using the Spearman's rank correlation coefficient. We further estimated the confidence of the Spearman's rank correlation coefficient using the Jackknife's method (permutation test) (Davidson and Hinkley 2007). For the VBM analysis, we used multiple regression analysis with oxytocin, age, sex and total grey matter volume as regressors. Another multiple regression was performed with extraversion, age, sex and total grey matter volume as regressors. We performed both ROI and whole brain analysis to study the correlation between oxytocin, personality and grey matter. We further computed oxytocin-dependent effects on grey matter of the amygdala-hippocampus complex by applying a mask of both regions simultaneously (using Anatomy toolbox) with the five domains of personality. We created a ROI based on the cluster found to be significantly correlated with oxytocin levels, in order to study its correlation with personality traits. Results are reported at a significance level of $P < 0.05$, family-wise error corrected. For the whole brain analysis, correlations were then considered significant if clusters corrected with a non-stationary correction (ns) exceeded a significance level of $p < 0.05$ (Poline *et al.* 1997).

All results are presented in Montreal Neurological Institute (MNI) coordinates.

4. Results

Oxytocin and Personality traits

Oxytocin plasma levels correlated positively with Extraversion scores of personality (Spearman's rank correlation coefficient, $\rho=0.445$, $p<0.007<0.01$, threshold corrected for multiple comparisons; Figure 1).

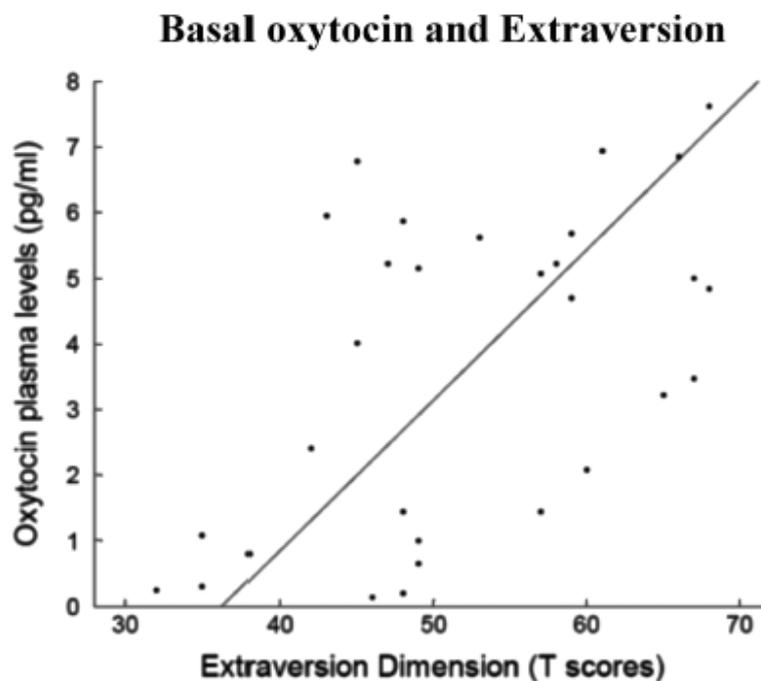


Figure 1 Plasma oxytocin and Extraversion. Positive correlation between plasma oxytocin and extraversion scores (with Bonferroni correction).

We further estimated the confidence of the Spearman's rank correlation coefficient using the Jackknife's method (permutation test). When randomly removing one subject, the rho coefficient varied from 0.389 ($p < 0.02$) to 0.512. When removing two subjects, the coefficient varied from 0.331 ($p < 0.05$) to 0.583. We concluded that the significance of the Spearman's test did not depend on the data from one or two specific subjects. No significant correlation was observed between oxytocin and the other domains of personality (Neuroticism $\rho = -0.151$,

$p > 0.4$; Openness $\rho = 0.123$, $p > 0.5$; Agreeableness $\rho = -0.106$, $p > 0.5$; Conscientiousness $\rho = 0.049$, $p > 0.7$). There is no gender effect on these correlations.

A finding recently reported in the literature of autism suggests that social withdrawal (characteristic of autistics' behavior) and low level of plasma oxytocin co-occur in this syndrome (Andari *et al.* 2010). To further investigate whether reduced sociability is associated with plasma oxytocin decrease in the healthy population, we tested an additional independent group of twenty subjects (mean age 22.40 ± 2.70). These subjects, recruited in the context of another study, were selected on the basis of their score in the extraversion dimension scale of the NEO-PI-R. For each dimension, NEO-PI-R scores are divided into "very low", "low", "medial", "high" and "very high". Subjects from this new group (Group 2) obtained extraversion scores situated in the lower bound of the scale (between 0 and 55). The lower bound of the scale refers to the low and very low scores of extraversion which are significantly below the average scores. For the purpose of this analysis only, Group 2 was compared with our experimental group of thirty subjects (Group 1) on two measures: NEO-PI-R personality scores for the five dimensions and oxytocin plasma levels. As expected, we found a significant difference between the two groups for extraversion (U Mann-Whitney, $z = 2.74$; $p < 0.0062$) with Group 2 obtaining lower scores compared to Group 1 (see also Supplementary Figure S1A). In other terms, subjects from the former group perceived themselves as more introverted than subjects from the latter. Remarkably, no differences were found between the two groups for the other personality dimensions (Neuroticism: $z = -0.9$, $p > 0.36$; Openness: $z = 1.94$, $p > 0.05$; Agreeableness: $z = -0.139$, $p > 0.89$; Conscientiousness: $z = 0.45$, $p > 0.65$). More important, we found plasma oxytocin level to be significantly different between the two groups ($z = 2.99$; $p < 0.002$; see also Supplementary Figure S1B) with Group 2 showing significant lower concentrations of oxytocin in the plasma comparing to Group 1.

Oxytocin and Regional grey matter volume

We performed ROI analysis in our experimental group of thirty subjects to correlate plasma oxytocin levels and regional brain volume in the amygdala and the hippocampus. The structural analysis provided evidence for a significant increase in grey matter volume in the right amygdala of individuals having lower levels of plasma oxytocin [$t=4.45$, $P_{FWE}= 0.012$; Figure 2A, all P values survive family-wise error correction (FWE), for multiple comparisons]. This cluster was entirely located in the right basolateral amygdala ($x=37$, $y=-6$, $z=-21$). In particular, while performing ROI analysis on amygdala subnuclei (dorsal, ventral lateral and ventral basal), only the volume of the ventral lateral sector of the right amygdala was found to be negatively correlated with plasma oxytocin levels [$t=4.45$, $P_{FWE}= 0.003$]. In addition, we observed a negative correlation between plasma oxytocin and the volume of right hippocampus [$t=4.28$, $P_{FWE}= 0.05$; Figure 2C], with a percentage of 44.8% in the Cornu Ammonis (CA) ($x=38$, $y=-18$, $z=-26$), 33.9% in the enthorinal cortex (EC) ($x=36$, $y=-7$, $z=-21$), and 21.3% in the subiculum (SUB) ($x=33$, $y=-16$, $z=-34$).

Also, based on the known correlation between extraversion, amygdala activation (Canli *et al.* 2002), and the volume of temporal brain regions (Johnson *et al.* 1999), we examined whether extraversion scores of subjects correlated with the volume of the amygdala and the hippocampus. The regression analysis demonstrated a significant enlargement of grey matter volume in the right amygdala in individuals presenting lower scores of extraversion (Figure 2B). Three clusters have been found for the correlation between extraversion and amygdala volume. The first cluster revealed 100% probability in the basolateral amygdala ($t=3.93$, $P_{FWE}= 0.034$; $x=33$, $y=-5$, $z=-22$) whereas the two other clusters showed 100% probability in the superficial amygdala ($t=3.77$, $P_{FWE}= 0.047$; $x=27$, $y=2$, $z=-17$) ($t=3.76$, $P_{FWE}= 0.048$; $x=25$, $y=3$, $z=-18$). In addition, our structural analysis revealed a significant negative correlation between extraversion scores and hippocampus volume [$t=4.54$, $P_{FWE}= 0.032$; Figure 2D], with

a percentage of 97% in the fascia dentate sector and 3% in the CA region of the hippocampus ($x=-23, y=-37, z=0$). All P values survive family-wise error correction (FWE), for multiple comparisons. There was no significant effect of sex, oxytocin, and grey matter as well as between extraversion and grey matter.

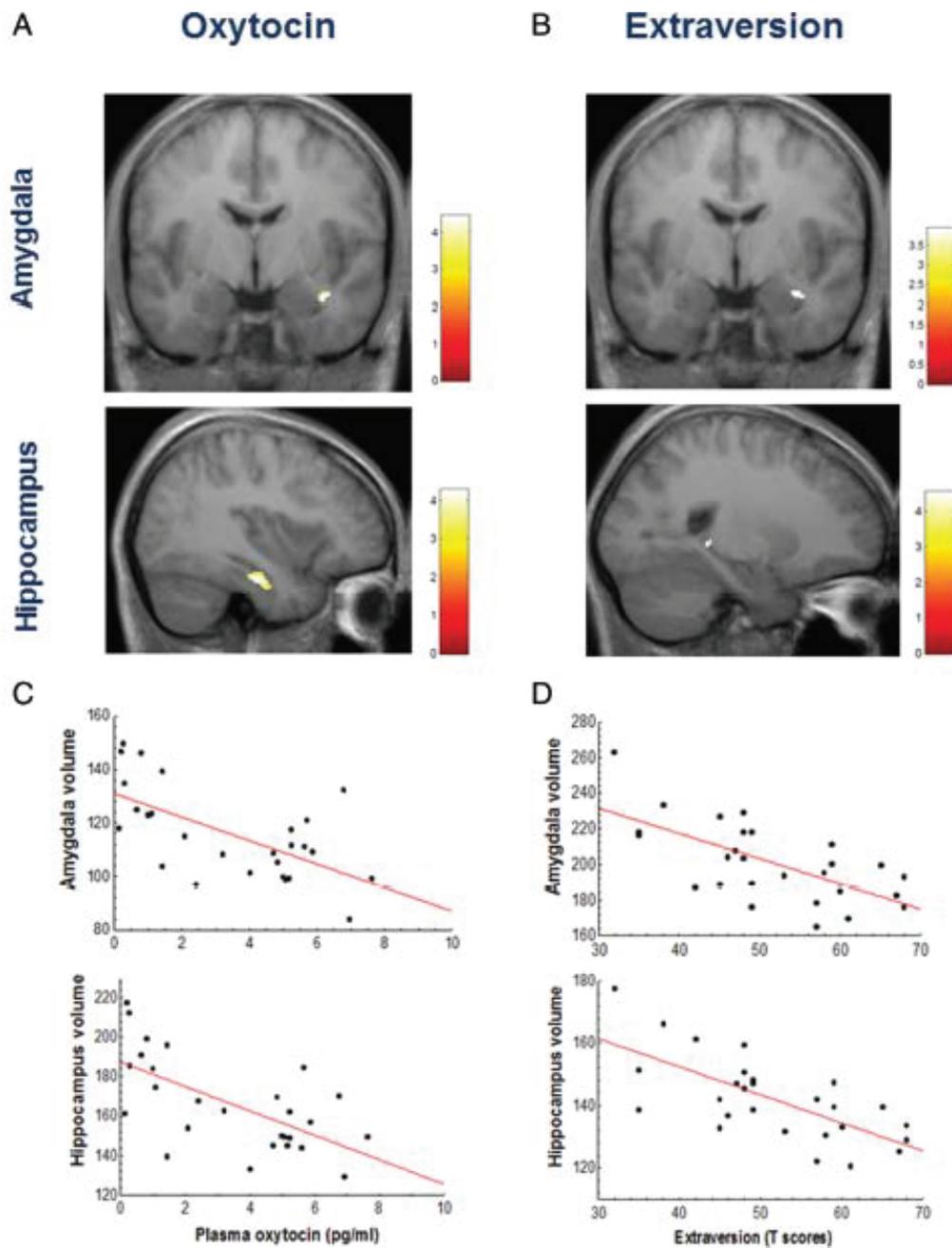


Figure 2 ROI gray matter correlations with Oxytocin and Extraversion. (A) ROI results showing larger right laterobasal amygdala (top, coronal view) and larger right hippocampus (bottom, sagittal view) in individuals having lower levels of plasma oxytocin; (B) ROI results showing larger right laterobasal and superficial amygdala (top, coronal view) and larger hippocampus (bottom, sagittal view) in individuals having lower scores of extraversion. (C) Graphs show the negative correlations between plasma oxytocin and amygdala gray matter volume (top) ($r=-0.57, P<0.002$) and hippocampus gray matter volume (bottom) ($r=-0.56, P<0.002$). (D) Graphs showing the negative correlations between extraversion scores and amygdala gray matter volume (top) ($r=-0.6, P<0.0009$) and hippocampus gray matter volume (bottom) ($r=-0.62; P<0.0005$). All p values survived FWE corrections. Arbitrary unit is the measure for amygdala and hippocampus volume.

Interestingly, whole brain analysis also provided evidence for a negative correlation between oxytocin plasma levels and the volume of temporal brain regions. One cluster was found in the right amygdala ($x= 37, y= -6, z= -21$), and the right hippocampus ($x= 38, y= -19, z= -27$) ($P <0.05$, corrected for multiple comparisons at cluster level; Figure 3A Figure 3B; Table1). A second cluster was found in the right inferior temporal gyrus ($x= 63, y= -32, z= -23$; Table 1). In accordance with the ROI analysis, whole brain analysis also revealed an inverse correlation between extraversion scores and temporal brain regions such as inferior temporal gyrus, amygdala and hippocampus (Table 2).

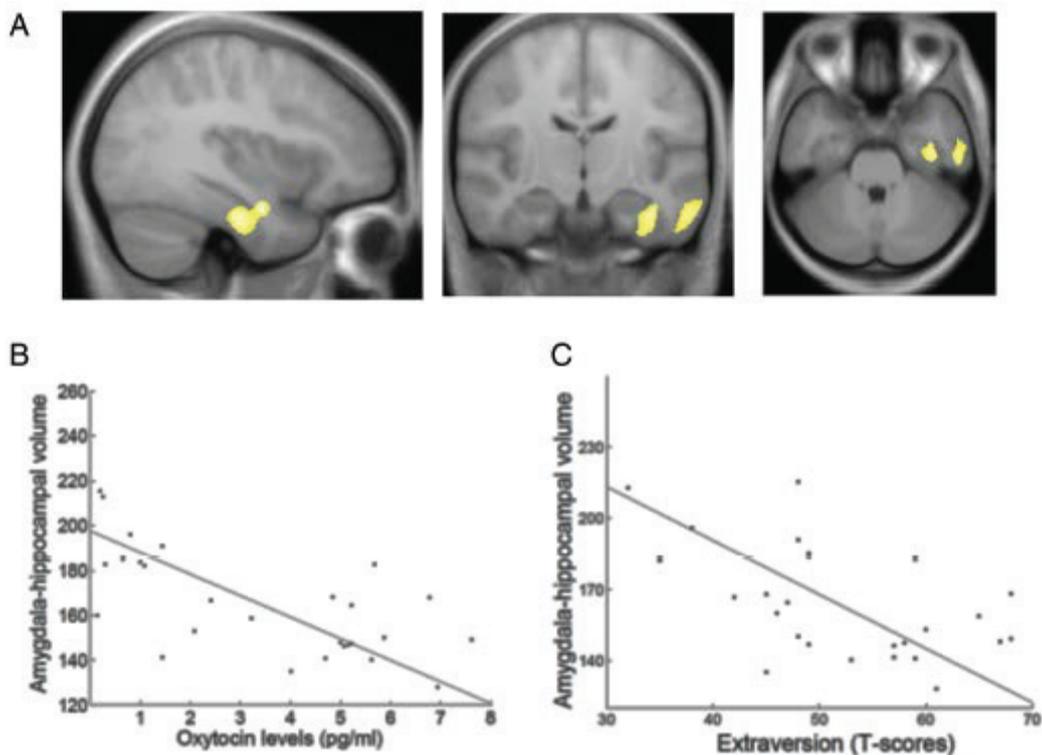


Figure 3 Whole brain correlations with oxytocin and extraversion. (A) Whole brain results for sagittal, coronal and axial view of the right amygdala-hippocampal complex (A-HC) volume which correlates inversely with Oxytocin plasma concentration. (B) Graph showing the negative correlation between oxytocin and the gray matter of A-HC ($Rho= - 0.592, P<0.002$). (C) Graph showing the negative correlation between the gray matter of combined amygdala/hippocampus region and extraversion scores ($Rho= -0.46, P<0.02$). Arbitrary unit is the measure for amygdala and hippocampus volume.

In addition, given the non-gaussian distribution of plasma oxytocin levels, we have performed additional non-parametric analysis between plasma oxytocin and brain volume by transforming oxytocin plasma values in rank scores. Whole brain analysis provided further evidence showing a negative correlation between oxytocin plasma levels and the volume of temporal regions ((1) $t= 5.11$; $x= 63$, $y= -32$, $z= -21$; $P < 0.05$, (2) $t= 4.20$; $x= 62$, $y= -47$, $z= -14$; $P < 0.05$; (3) $t= 4.04$; $x= 54$, $y= -21$, $z= -29$; $P < 0.05$, corrected for multiple comparisons at cluster level). In particular, ROI analysis showed again that the lateral ventral amygdala and hippocampus are negatively correlated with plasma oxytocin levels [$t=3.25$, $P_{FWE}= 0.005$; $t=4.25$, $P_{FWE}= 0.02$ respectively].

When computing personality scores with oxytocin-dependent cluster, we found that only extraversion scores are negatively correlated with the amygdala/ hippocampus complex [$t=3.93$, $p < 0.019$, $x=33$, $y=-5$, $z=-22$; $t=3.88$, $p < 0.019$, $x=24$, $y=-40$, $z=-1$]. This negative correlation between total gray matter volume of the combined amygdala and the hippocampus region and extraversion scores ($p < 0.02$; $r= -0.46$) is represented on Figure 3C. Hence, our volumetric analysis demonstrated that introverted individuals presented lower levels of oxytocin associated with larger volume in amygdala and hippocampus regions.

Table 1
Regional brain volume and endogenous oxytocin levels

Correlation area	BA	L/R	Cluster	MNI			T-value
				x	y	z	
Amygdala (LB)	20	R	1566	37	-6	-21	4.81
Hippocampus (CA)	20	R		38	-19	-27	4.32
Hippocampus	20	R		34	-16	-35	4.02
Hippocampus (SUB)	35	R		37	-18	-26	4.31
Hippocampus	35	R		31	-15	-37	3.85
Inferior temporal gyrus	20	R	2282	63	-32	-23	4.73
Inferior temporal gyrus	20	R		58	-13	-26	4.25
Inferior temporal gyrus	20	R		57	-10	-26	4.18
Middle temporal gyrus	21	R		53	-7	-26	4.18
Inferior temporal gyrus	20	R		55	-20	-29	4.03
Inferior temporal gyrus	20	R		54	-20	-31	4.02

Note: Whole-brain analysis showing significant correlation between oxytocin and brain volume. Enlargement of temporal regions, including the amygdala and hippocampus, in individuals having lower levels of oxytocin. BA, Brodmann area.

The 2 clusters above and all the coordinates are corrected at the cluster level ($P < 0.05$). Amygdala LB (laterobasal), hippocampus CA (Cornu Ammonis), hippocampus SUB (subiculum). R for the right side and L for the left side.

Table 2
Regional brain volume and extraversion scores

Correlation area	BA	L/R	Cluster	MNI			T-value
				x	y	z	
Inferior temporal gyrus	20	R	1412	46	-11	-26	4.73
Inferior temporal gyrus	20	R		47	-7	-25	4.43
Inferior temporal gyrus	20	R		47	-27	-25	4.39
Inferior temporal gyrus	20	R		48	-26	-26	4.36
Middle temporal gyrus	21	R		60	-8	-26	4.11
Middle temporal gyrus	21	R		56	-8	-25	3.95
Middle temporal gyrus	39	L	2453	-49	-62	5	6.17
Precuneus	30	R	1620	24	-46	0	4.98
Lingual gyrus	30	R	1620	17	-69	-2	4.70
Parahippocampal gyrus	19	R	1620	23	-57	-6	4.42
Hippocampus (CA)	20	R	2610	33	-5	-2	3.36
R amygdala (LB)							

Note: Whole-brain analysis showing significant correlations between extraversion and brain volume. Enlargement of temporal regions, including the amygdala and hippocampus, in individuals with lower scores of extraversion. BA, Brodmann area.

Hippocampus CA (Cornu Ammonis), R amygdala LB (laterobasal). R for the right side and L for the left side.

5. Discussion

A large body of evidence in animals and humans supports the role of oxytocin in social behavior and attachment (Meyer-Lindenberg et al. 2011). Our findings corroborate this view and go one step further by suggesting that the basal plasma level of oxytocin in our body is associated with a basic trait of sociability. We found that individuals who perceive themselves as extraverted and seek social contacts, present higher levels of plasma oxytocin compared to introvert and less social ones. This result was confirmed in a second group of twenty subjects chosen *a priori* for their low level of sociality. Our results are consistent with animal studies showing that in highly affiliative species, oxytocin level is higher compared to less gregarious ones (Rosenblum et al. 2002). Our results are also highly consistent with the growing evidence of a role of oxytocin in mediating different aspects of social behavior (Lee et al. 2009). Higher plasma levels of oxytocin have been associated with personalities showing greater social support, spousal support, and a higher frequency of partner hugs (Grewen et al. 2005; Light et al. 2005). Moreover, levels of oxytocin were found to correlate with affectionate parenting behaviors such as the expression of positive affect, affectionate touch and proprioceptive contact (Gordon et al. 2010). Plasma oxytocin levels are also linked to maternal gaze, human maternal attachment, and mother-infant bonding, and can also predict an infant's social growth (Feldman et al. 2007; Levine et al. 2007). Conversely, oxytocin plasma levels were found to be extremely lower in patients with autism (Andari et al. 2010) and in depressive individuals (Scantamburlo et al. 2007), both suffering from social disorders and lack of interaction with others. Hence, the plasma level of oxytocin is very likely to hold physiological and behavioral significance linked to individuals' capability to socialize. However, plasma oxytocin levels did not correlate with the Agreeableness dimension. Agreeableness encompasses different prosocial traits such as *trust*, *empathy* and *altruism*. High scores in agreeableness reflect prosocial attitudes such as altruism and empathy, whereas low scores reflect antisocial tendencies such as aggression. Although oxytocin promotes prosocial behaviors such as mind

reading (Domes et al. 2007), generosity (Zak et al. 2007), and trust (Kosfeld et al. 2005), its role in pure empathy and general altruism remains ambiguous and controversial in the literature. Indeed, oxytocin administration enhanced parochial altruism (De Dreu et al. 2010), did not affect feelings of empathy, and did not modulate the activity of brain regions relevant for empathy (Singer et al. 2008) . Although oxytocin drives cooperation, bonding, and trust responses, there is also strong evidence implicating it in defensive, yet not offensive, responses during competition (De Dreu et al. 2010). Hence, while the role of this molecule in increasing affiliation and bonding is irrefutable, the routes of its implication in prosocial feelings need further investigation.

Our findings showing a link between plasma oxytocin levels and personality traits corroborate and extend the results obtained with exogenous administration and endogenous oxytocin-induction effects. Our results also stress the importance of considering the level of plasma oxytocin concentration at rest for each individual, as a covariate measure in future protocols using oxytocin administration. In other terms, as we show that plasma oxytocin variation is correlated with differences in social personalities, the magnitude of oxytocin's effects on social behavior could vary from one individual to another as a function of his/her plasma oxytocin level.

In keeping with this idea, a crucial issue is whether the level of plasma oxytocin reflects brain oxytocin function. Recently, it has been found that magnocellular neurons of the supraoptic nucleus of the hypothalamus release oxytocin in the bloodstream *and* in the brain (Ross et al. 2009). Although the relation between central and plasma oxytocin is not completely understood, there is a large emerging body of evidence in animals (Wotjak et al. 1998; Cushing and Carter 2000) and humans (Burri et al. 2008) demonstrating that central and plasma oxytocin levels are likely to be coordinated. Moreover, we recently demonstrated that the administration of oxytocin to patients with autism resulted in a significant increase of this hormone at the plasma level, which associated with a significant behavioral improvement of

social relations. Finally, it has been found that maternal plasma oxytocin and mothers' fMRI bold response to their own infant's picture (in brain regions rich in oxytocin receptors) increases in parallel (Strathearn et al. 2009). Of particular interest, a very recent finding from a large population of parents shows that oxytocin receptor (OXTR) risk alleles linked with social dysfunctions are associated with lower plasma oxytocin and reduced parental touch (Feldman et al. 2012). Thus, plasma oxytocin levels are likely to be related to oxytocin functions in the brain.

Regarding the anatomical correlates of plasma oxytocin levels, here we found two brain regions, the right amygdala and the right anterior hippocampus, correlating with oxytocin and extraversion. Individuals with low plasma oxytocin levels and with low scores in extraversion displayed larger volume in these areas. It is tempting to speculate that, for introverted individuals, approaching others is emotionally costly, as they have to regulate their fear reaction (e.g. social betrayal), an emotional state controlled by the amygdala. It has been shown that oxytocin modulates autonomic fear responses through an inhibitory action on neurons in the central amygdala (Huber et al. 2005). Our results further suggest that oxytocin is related to the activity of the anterior sector of the hippocampus, a region which has been shown to specifically mediate anxiety responses (Oler et al. 2010).

Thus, during social interactions, oxytocin may adjust the response in the amygdala by decreasing saliency to negative cues and therefore reducing stress and fear in order to promote social proximity. The activation of such adaptive mechanism may, at the same time, prevent learning and reactivation of the anxiety state through the inhibitory action of oxytocin on the anterior hippocampus. By contrast, a low level of oxytocin and low scores in sociality would be associated with higher neural activity in these structures, thus leading in the long run to their experience-dependent expansion (Maguire et al. 2006).

Hence, the enlargement of lateral amygdala and anterior hippocampus that we found in introverted individuals having low plasma oxytocin can be a sign of increased propensity to

assign social contexts negative and stressful salience. Nevertheless, as highlighted in the introduction section, the triadic interaction between oxytocin, amygdala/hippocampus complex, and social behavior is trickier than previously thought.

One study has for instance reported smaller volumes of both left and right amygdala in healthy females carrying a genetic variants of the oxytocin system (OXTR rs2254298(G allele) found to confer a risk for autism (Furman et al. 2011). Another study has found extraversion to correlate positively with gray matter concentration in the left amygdala and neuroticism to correlate negatively with gray matter concentration in the right amygdala (Omura et al. 2005). In contrast, in another study, extraversion or neuroticism did not correlate with the volume of the amygdala (Wright et al. 2006). A recent report has found a correlation between an enlargement of the amygdala volume with a bigger size of a virtual social network (Bickart et al. 2011). Of course, it can be objected that being part of a big social network size does not automatically mean high sociability in the real world. In fact, whereas an enlargement of the amygdala was induced by increase of the social network size in monkeys, amygdala volume did not correlate with a key sign of qualitative social interaction, namely social dominance (Sallet et al. 2011). Hence, an expansion of social network size is not equal to a better quality of social interaction and it could be argued that the related enlargement of amygdala size can instead be a sign of worse and impaired social interaction.

Our findings are in agreement with previous evidence showing an enlargement of amygdala in individuals having the oxytocin receptor rs2254298A allele, a candidate phenotype to confer risk for ASD in a Chinese sample (Inoue et al. 2010). Our results are also in agreement with a recent report showing negative correlations between extraversion and region brain volume, namely in prefrontal and temporal cortex (Forsman et al. 2012). Importantly, our results are also in keeping with brain volume measurements in patients with psychiatric disorders. Different authors have reported an enlargement of amygdala and hippocampus volume in children with ASD (Sparks et al. 2002; Schumann et al. 2004), and an enlargement of amygdala

in depressed patients (van Eijndhoven et al. 2009) and in bipolar disorders (Bora et al. 2010). Although these abnormalities in psychiatric disorders cannot be taken as an evidence of the neural correlates of introverted personalities in the healthy population, the structural deficits found in these pathologies can draw an extreme line for the role of the amygdala and the hippocampus in social dysfunctions.

Notably, the enlargement of the amygdala/hippocampus we found to be correlated with plasma oxytocin levels is lateralized and circumscribed to the right hemisphere. This is in keeping with the growing evidence showing the preferential contribution of the right hemisphere for the regulation of social and emotional behavior (Mychack et al. 2001). In addition, the association that we found between the right amygdala and low levels of oxytocin in introverted individuals is in congruence with the previous demonstration of the role of right amygdala in the detection of negative cues as opposing to the left amygdala (Canli et al. 2002).

In the literature, several differing mechanisms have been proposed for oxytocin's action on behavior, including anxiety and fear reduction, motivation enhancement, and increased salience to social cues. Moreover, as previously discussed, there is a discrepancy in the literature about the brain correlates of oxytocin and extraversion, in particular with regards to key emotional brain regions such as the amygdala. We reasoned that these contradictions are partly due to a lack of consideration of the different contributions of the sub-parts of amygdala and hippocampus to social behavior. For instance, different functions of the amygdala seem to be related to the action of different sub-nuclei within the amygdaloidal complex. While the *superficial amygdala* is selectively activated in relation to socially salient stimuli (Goossens et al. 2009), the *basolateral amygdala* is linked to threatening feelings and emotional discrimination (Hoffman et al. 2007) and the *dorsal amygdala* is implicated in attention and vigilance (Davis et al. 2010). Of particular interest, the lateral nucleus of the basolateral complex receives highly processed sensory information and is highly sensitive to negative valence detection (Davis et al. 2010). As we found that plasma oxytocin selectively correlated

with the *lateral amygdala and the anterior hippocampus*, our results are more in line with the hypothesis that oxytocin alters the processing of social information by reducing the saliency of negative affects (such as fear and anxiety) in order to enhance social affiliation.

Why some people develop with a lesser propensity to be sociable than others is likely to be the effect of a bidirectional interaction between genetic and environmental factors. Oxytocin's action begins from birth. Gene knock out for oxytocin expression inhibits maternal care and attachment (Pedersen et al. 1982). It is likely that during development, oxytocin influences our behavior towards others by favoring social approach. Reciprocally, social contact may act as a positive reinforcer by increasing plasma oxytocin levels and modulating oxytocin's action in the brain. While causality cannot be inferred from our findings, recent reports on the effects of exogenous oxytocin administration weights more in favor of a direct influence of the oxytocin system on social attitudes (Cardoso et al. 2012). Moreover, the interplay between the development of the oxytocin system and social experiences is likely to induce structural variations at the brain level. This assumption is in line with recent evidence showing the impact of social network size on brain volume (Sallet et al. 2011).

Our findings provide evidence for a neural mechanism linking structural brain variation and physiological oxytocin variability to individual differences in affiliative and emotional personality traits. In order to increase human fitness, oxytocin appears to play an evolutionary role in endowing our brain with the capacity to develop social skills, probably by overthrowing the cost of negative affects triggered by social proximity.

B. CHAPITRE 2 : L'OCYTOCINE EST-ELLE CAPABLE D'INFLUENCER LA PERCEPTION DE NOTRE PROPRE SOCIABILITE ?

Article en préparation :

Oxytocin enhances self-perception of prosocial feeling.

Elissar Andari *, **Raphaëlle Mottolese***, Angela Sirigu
*equally contributors

Présentation et Résumé de l'étude

L'étude précédente a mis en évidence les relations réciproques existantes entre le taux d'ocytocine physiologique, la personnalité sociale des individus et la morphologie des structures cérébrales. Ces données laissent supposer que l'OT est un élément déterminant de notre comportement social. De cette façon, l'OT serait-elle capable d'agir à la base de notre comportement social c'est-à-dire sur l'image sociale que nous avons de nous-même et ceci en dehors de tout contexte social ?

Pour cela, dans une étude en double aveugle, nous avons testé l'effet de l'administration d'OT sur les scores obtenus aux NEO PI-R par les sujets sains. Nous faisons l'hypothèse que l'OT pourrait augmenter notre sentiment de sociabilité.

De façon, extrêmement intéressante, nos résultats montrent qu'après une prise d'ocytocine, les participants rapportent des scores plus importants au domaine Agréabilité du NEO PI-R, et plus particulièrement au niveau de la facette « Confiance ». Ainsi des scores importants au domaine Agréabilité du NEO PI-R traduisent une perception des autres comme des personnes de confiance et donc favorisent la volonté d'interagir avec ces personnes. Par conséquent, l'ocytocine semble augmenter notre sentiment de confiance et la perception que nous avons des autres. Or, la perception que nous avons de nous-même est une composante déterminante du comportement social que nous allons exprimer. Ainsi, l'OT semble agir à la racine de notre sociabilité. De plus, nous avons mis en évidence que l'effet de l'ocytocine sur le sentiment de sociabilité des sujets était d'autant plus important que la concentration plasmatique des individus était faible, ce qui correspond aux individus les plus timides. Cela suppose l'existence de mécanismes de régulation précis de l'action du neuropeptide afin que son effet pro-social soit ciblé et adapté aux besoins des individus. Ces résultats suggèrent que le niveau basal d'ocytocine des individus serait à prendre en compte dans les études évaluant l'effet comportemental de l'ocytocine.

Oxytocin enhances self-perception of prosocial feeling.

Elissar Andari *, **Raphaëlle Mottolese***, Angela Sirigu

*equally contributors

1. Abstract

The capability to interact with others in complex social situations constitutes one of the essential abilities required for our daily life. The question is how do some individuals develop healthy social bonds while others avoid social approach and proximity? The process with which individuals feel safe toward others and perceive other's intentions is very likely to influence social approach and engagement. Approach and social proximity constitutes the key features of a long term social bonding. The neuropeptide oxytocin mediates a large range of emotions and prosocial behaviors in humans and animal species, possibly by reducing fear and anxiety. We hypothesized that oxytocin can also modulate the self-perception of prosocial feelings which are related to traits of personality. Here, we administrated oxytocin spray or placebo to 24 healthy individuals and examined their scores on the five domains of the personality NEO PI-R inventory. We found that oxytocin inhalation increased significantly the scores of *agreeableness* domain and in particular, the *trust* facet. Hence, individuals who received oxytocin reported to *feel less cynic and less skeptical concerning the other's intentions*. These findings might shadow a light on a new window of oxytocin's actions in promoting the self-perception of prosocial feelings which can be related to "less fearful feelings" and, consequently impact "approach behaviors".

2. Introduction

Nature has endowed the evolutionary nonapeptide *oxytocin* in reproduction process, and also in affiliative behavior. Released in the blood from the pituitary gland, oxytocin regulates parturition and lactation. Oxytocin is also released in the brain and consequently affects a variety of social behaviors such as maternal-infant interactions and adult pair bonding (Ross et Young 2009a). Recent studies in humans have revealed that oxytocin promotes prosocial behaviors, including trust, reciprocity, and generosity measured using monetary transfers to strangers (Kosfeld et al. 2005; Zak et al. 2007). During economical games, participants who received money from the partner as a signature of trust had higher levels of plasma oxytocin. Indeed, participants are instructed that their partners had the choice *to share or to keep* more money. Hence a decision to share from the partner is likely a decision of trust. However, there is no effect on oxytocin levels when participants received the same amount of money, but, were instructed that the partner's choice is rather random. Furthermore, when participants reciprocated back the trustworthy partner, their degree of reciprocation was positively correlated with an increase of oxytocin levels (Zak et al. 2005a; Zak et al., 2004). In addition, exogenous oxytocin administration increased monetary transfers to a stranger. This increase of trust was not related to a general enhancement of risk taking (Kosfeld et al., 2005). Another example of oxytocin's prosocial actions is its implication on empathy. Oxytocin enhances participants' capacities to infer the emotional states of others in a test of "Reading the Mind in the Eyes" (RMET) (Domes et al. 2007). The role of this neuropeptide in the modulation of social behavior was also studied in patients who suffer from social disorders such as Autism Spectrum Disorder (Andari et al. 2010). In that study, patients were more capable to detect intuitive social cues during social interactions game. The authors suggested that oxytocin enhances social comprehension by reducing fear from social encounters and reducing anxiety feelings.

In addition to the association between oxytocin and social-related information, recent findings suggest that oxytocin could also be linked to personality traits of affiliation (Andari et al. 2012). The personality traits mirror the balance between one's actual behavioral status and one's self-perception notion of this status. The self has a big impact on our behaviors and choices. Some people will enjoy social approaches and others prefer to avoid social proximity. This tendency of approach versus avoidance will mold the individual variability in sociality and affiliation at a long term (Porges et al. 2003). In other terms, the way we perceive ourselves and our own behavior will eventually highly impact our future actions, in which we develop different levels of affiliation and bonding for instance. Leading research in psychology has shown how self-perception can affect judgments and preferences in line with fitness theory and adaptive way. For instance, female participants, who considered themselves physically as more attractive, showed a greater preference for symmetric male faces which are considered as best phenotype markers with fitness theory (Little et al. 2001). Also, the self-judgments of sensitivity feelings toward other's needs were found positively correlated with the degree of prosocial behaviors (Caprara and Steca 2005). Therefore, while self-perception affects fitness markers perception and also prosocial actions, we hypothesize that the biological basis for prosocial behaviors which are the best indicators of adaptation and evolution might also underlie the basis of self-perception for the prosocial feelings.

Consequently, a fundamental question would be to investigate whether oxytocin administration to healthy individuals can modulate their self-representation of traits of personality, in particular those related to sociality? We suggest that as oxytocin reduces fear of being betrayed (Kirsch et al. 2005), oxytocin inhalation can induce positive positive feeling about other's intentions, regardless of any social interactive context, and consequently enhance our capacity to have prosocial acts.

By using a robust standardized personality test (The Revised NEO Personality Inventory, Costa et al. 1992), we investigated in a between-study; placebo controlled design, whether intranasal

administration of oxytocin can modulate the scores of personality related to social and prosocial traits.

3. Material and Method

In a double-blind between-groups design, we investigated the effects of intranasal administration of oxytocin on the modulation of scores of personality traits, by the mean of the well-established Revised NEO Personality Inventory. This instrument assesses five core personality dimensions: Extraversion (tendency to enjoy human interactions, enjoy time spent with people and find less reward in time spent alone), Neuroticism (tendency to experience negative emotions, emotional instability), Openness (active imagination, aesthetic sensitivity, intellectual curiosity), Agreeableness (tendency to be compassionate and cooperative), Conscientiousness (tendency to show self-discipline, act dutifully, and aim for achievement). Twenty four healthy volunteers participated in the study (mean age= 23.45 ± 3.58 , 13 men and 11 women). Twelve subjects were included in the oxytocin group and twelve others in the placebo group. Each volunteer in each groups participated in two experimental sessions separated by two weeks. Sessions took place between 10:00 AM and 12:00 AM at the same time of day for each participant. During one session, participants completed the NEO-PI R questionnaire without any spray intake, in order to obtain an objective basal measure of their personality traits. During another session, participants received 24 IU of intranasal oxytocin (syntocinon spray; Novartis; three puffs per nostril; each puff with 4 IU of oxytocin) or intranasal placebo. Following 40 minutes of substance administration, the time that central nervous oxytocin levels reached a plateau (Born et al. 2002), participants accomplished the NEO-PI R test. Moreover, blood samples withdraw (6-mL EDTA tube) were effectuated for all participants during a third visit by a licensed phlebotomist. Both blood samples and oxytocin administrations were conducted at the Neurological hospital in Lyon. Plasma was separated by centrifugation at $2000 \times g$ (for 10 min at 4°C), then stored in a freezer at -70°C until assay. The

centrifugation and the storage of EDTA tubes were conducted at Neurobiotec Center in Lyon Neurological Hospital. The analysis of immuno-reactive oxytocin in the plasma was performed by the University Center of Immunology and Neuroendocrinology in Liège (Belgium). Prior to assay procedure, plasma samples were filtered on Centricon YM-3 (cut-off 3000 Da, Millipore, USA) to get rid of interfering plasma proteins. After filtration, plasma oxytocin assay was performed using specific enzyme-immunoassay (Andari et al. 2010). General affect was measured after oxytocin and after placebo intake for each participant using the PANAS scale (Watson et al. 1988) to assess the possible mood-altering effects of oxytocin. Order of sessions were counterbalanced between subjects

Exclusion criteria were psychiatric, neurological and medical illness, pregnancy (for women), medication, significant medical illness, drug or alcohol abuse, and smoking more than 15 cigarettes per day. Subjects abstained from food and drink (other than water) for 2h before the experiment and from alcohol, smoking, and caffeine for 24 h before the experiment. Participants gave a written consent to participate in the study which was approved by the Local Ethical Committee (Centre Léon Berard, Lyon IV).

Statistical analyses were carried out using Statistica software (Statistical Package for the Social Sciences, version 7.1) and Matlab (The MathWorks, version 7.0) for Windows. Non parametric analyses were conducted to study oxytocin's effects on each domain and traits of personality. Delta scores were calculated by subtracting personalities' scores at a basal level from scores with spray intake (oxytocin or placebo). Bonferroni corrections were applied for the differences between oxytocin and placebo deltas for each domain and each trait of personality. In addition, non-parametric correlations (using Spearman rank test) were performed between oxytocin plasma levels and oxytocin's effects on the modification of personality scores.

4. Results

Compared with placebo condition, exogenous administration of oxytocin increased significantly the scores of the agreeableness domain (Mann–Whitney U test, $z = 2.89$, $p < .0036$, two-sided; see Figure 3.1A). We applied Bonferroni correction for multiple comparisons with the five domains of the NEO-PI R. For each treatment condition (placebo and oxytocin), we subtracted the scores obtained after treatment from those obtained at the basal condition. There is no significant effect of oxytocin for the other four domains (Neuroticism: $z = 1.7$, $p > 0.08$; Extraversion: $z = 0.78$, $p > 0.43$; Openness: $z = 1.38$, $p > 0.16$; Conscientiousness: $z = 1.15$, $p > 0.24$).

At a finer grade, we studied oxytocin's effects on each facet ($n = 6$) of the agreeableness domain. Interestingly, we found that oxytocin administration increased significantly the “trust facet” scores (Mann–Whitney U test, $z = 2.65$, $p < 0.008$, two-sided; see Figure 3.1B). No significant effect were observed for other five facets (Straightforwardness ($z = 0.92$, $p > 0.35$), Altruism ($z = -0.05$, $p > 0.95$), Compliance ($z = 0.84$, $p > 0.4$), Modesty ($z = 2.12$, $p < 0.036$), Tender-Mindedness ($z = -0.52$, $p > 0.6$). All these above results were controlled for gender, sex and order effects.

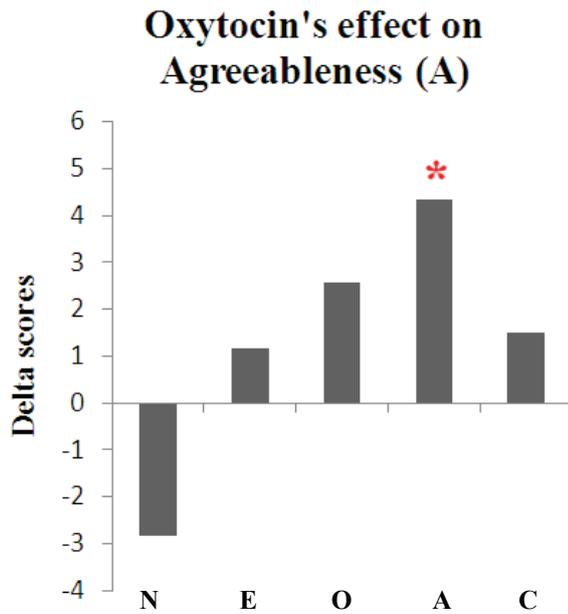
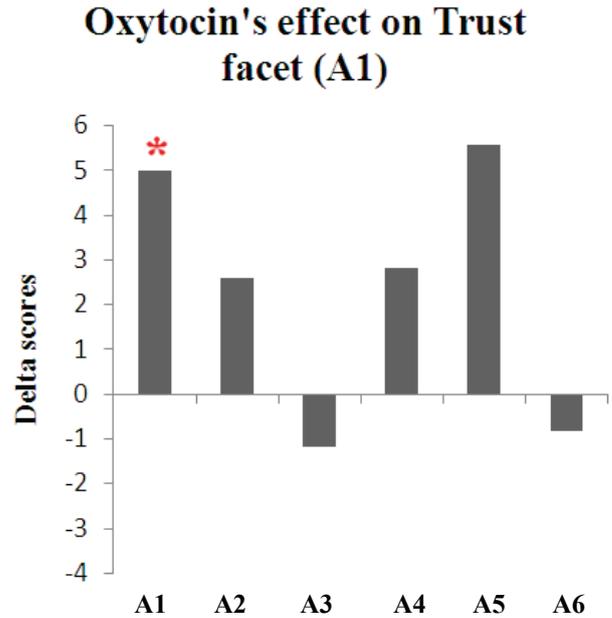
A**B**

Figure 1. Oxytocin inhalation enhances the scores of Agreeableness.

(A) Exogenous administration of oxytocin enhances significantly the scores of Agreeableness (A) domain and not the other four domain of personality (N: Neuroticism; E: Extraversion; O: Openness; C: Conscientiousness). (B) Exogenous administration of oxytocin enhances significantly the scores of one facet of Agreeableness: the trust facet (A1). No significant results for the other facets: A2: Straightforwardness; A3: Altruism; A4: Compliance; A5: Modesty; A6: Tender-Mindedness. The Delta scores correspond to the difference between placebo scores (placebo *minus* basal) and oxytocin scores (oxytocin *minus* basal). The red asterisk correspond to a significant result with Bonferroni correction.

Finally, our analysis revealed significant negative correlation between OT plasma concentration and its effect on Agreeableness scores (N = 10, Spearman, $R = -0.80$, $p = 0.005$). We found the same pattern concerning the effect of oxytocin on the facet Trust (A1) scores (N=10, Spearman, $R = -0.63$, $p = 0.048$) (Figure 2). In other words the effect of OT on score was more important for individuals that have lower oxytocin concentration.

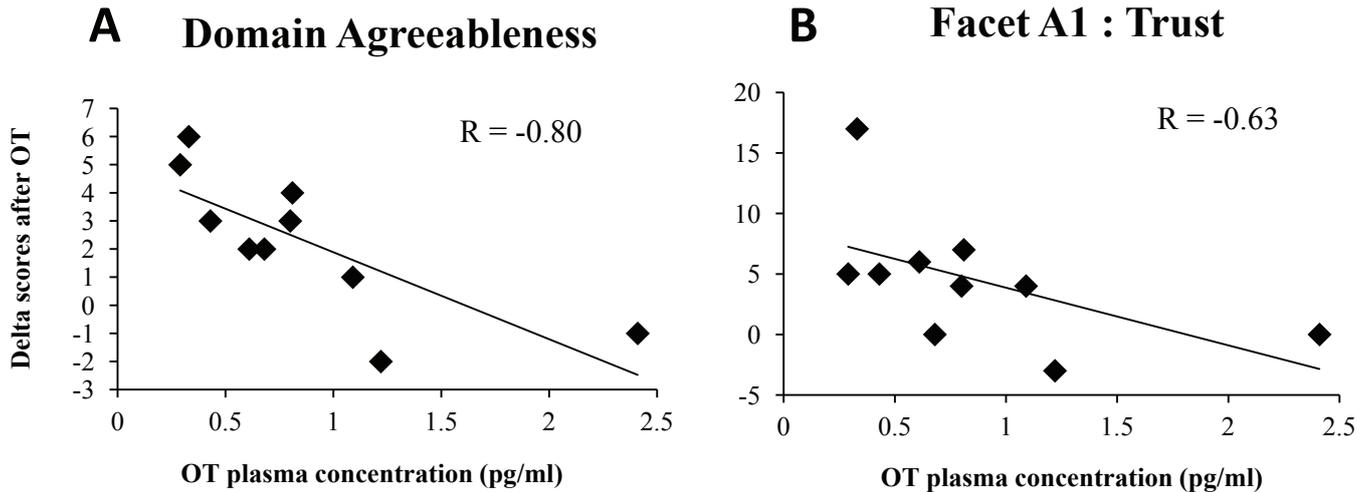


Figure 2. Correlation between oxytocin effect on NEO PI-R scores and OT plasma concentration
 Our analysis revealed a significant correlation between oxytocin effect on NEO PI-R scores (Delta scores after OT) and oxytocin plasma concentration on the Domain Agreeableness (A) and its Facet Trust (B). The effect of oxytocin on NEO PI-R scores was more important for subjects that had lower oxytocin plasma concentration

5. Discussion

Oxytocin's role in orienting social behavior has been extensively studied in the literature. In the present study, we found that the traits of prosocial behaviors can also be driven by oxytocin. In a group of healthy volunteers, we found that oxytocin administration increased significantly individual's scores in the domain of *agreeableness* of the NEO PI-R inventory. Moreover this effect seems to be majorly explained by the *trust component* of the agreeableness domain. Hence, individuals who received oxytocin reported to feel that the majority of people are well-intentioned, honest and worthy to trust. Agreeableness domain constitutes the major determinant of prosocial behavior (Graziano et al. 2007). Individuals with higher scores in Agreeableness were found to be more empathic and more willing to help others. This tendency to trust others and feel good intentions about others allows these individuals to be friendlier and to maintain positive relationship, *a behavior crowned by its adaptive features*. Moreover, the tendency to feel agreeable and liking to benefit others such as sharing, caring and helping

others can nourish positive feelings (Caprara and Steca 2005) and has already shown to increase oxytocin levels (Zak et al. 2007). Hence our present findings corroborates with previous research of oxytocin's action on empathy (Rodrigues et al. 2009) and trust (Kosfeld et al. 2005) and suggest further that oxytocin enhances the self-perception of the agreeableness feelings and trusting others on behalf of any social context.

The personality traits are characterized by tendencies and self-beliefs which can differ from one individual to another. Social cognitive theorists speculated the crucial importance of the *self* in influencing the encoding of social information and the expression in social behavior. For instance, the self-perceived attractiveness influences human preferences in judging attractiveness in others (Little et al. 2001). Females who considered themselves as more attractive showed more preference for more attractive male faces. Moreover, Caprara (2002) showed that affective self-efficacy beliefs are important determinants of psychosocial functioning, including prosocial behavior. Indeed, individual's judgments about their abilities to be sensitive to other's feelings in situation of need, have accounted for a significant portion of individual differences in prosociality. In other terms, it is possible that oxytocin promotes prosocial behavior such as trust in others through its action on the self-perception of the feeling to trust others. Thinking that others have good intentions can lead us to be more altruistic, empathic, trusting others, enjoying other's company, *features related to fitness markers*. In our previous work, we showed that extraverted individuals who enjoy living in groups had higher plasma oxytocin levels (Andari et al. 2012). One question that could be raised in this study is why oxytocin intake did not modulate the self responses of extraversion scores? Extraversion domain reflects the affiliative and social bonding traits of personality. The questions related to this domain refer to the social experience, the tendency to live in group, to be gregarious and to seek other's approach. Although extraversion and agreeableness deal with social behavior, however, they also present some conceptual differences, nevertheless. Agreeableness deals more with motivation and emotional processes that have consequences on maintaining positive

relationships for instance. Hence, in a non social context, oxytocin administration did not influence the individual's perception about their previous social experiences, but affected their From a developmental point of view, oxytocin's action on enhancing self-perception of agreeableness is also in line with previous suggestions of oxytocin's action on reduction of fear and anxiety (McCarthy et al. 1996). Neuroimaging and structural studies have explored the neural mechanisms driving the prosocial impact of oxytocin in the human brain, and have highlighted activation decreases in areas implicated in fear and anxiety process, especially the amygdala and hippocampus (Kirsch et al., 2005; Andari et al. 2012). Moreover, it has been suggested that individuals with higher degrees in agreeableness are more capable to control their negative feelings and internalize the anger in frustrations situations (Graziano et al. 1996). This type of internalization process has been named as "effortful control". Oxytocin through its action on fear and stress can induce a better image of self agreeableness which requires by itself a control of negative feelings. When individuals feel less fear from being deceived by others, more positive feelings about other's intentions can emerge, allowing them to engage in social proximity with others. This process highly implicates oxytocin system which is impacting the hypothalamic pituitary adrenal (HPA) axis to reduce fear and anxiety and also interacting with rewarding hormones such as dopamine during social proximity to enhance the positive effects of social approach.

Taken together, these findings suggest a potential new action of oxytocin on affecting the self-perception and the self-representation of trust, a feeling that is likely to be related to a reduction of fear, and consequently may enhance interpersonal interactions. Such conclusions need further experiments and evidences with larger samples. Moreover, long term studies targeting the self-perception and also social behavior in the same time can be a window for a better understanding of oxytocin's action in healthy individuals and also in patients with social disorders.

C. CHAPITRE 3 : EXISTE-T-IL UNE CORRELATION ENTRE OCYTOCINE PLASMATIQUE ET PERIPHERIQUE ?

CSF oxytocin is correlated with plasma oxytocin in human patients.

Raphaelle Mottolese*, Arthur Lefevre*, Nadia Merhoum, Carmine Mottolese, Angela Sirigu
*equally contributors

Article en préparation en vue d'une prochaine soumission, par conséquent nous présenterons ici l'étude en français

Présentation et Résumé de l'étude

Si durant les dernières années, le nombre d'études concernant l'implication de l'ocytocine (OT) a considérablement augmenté, son fonctionnement au niveau central est encore loin d'être élucidé et ce particulièrement chez l'homme. En effet, les techniques utilisées chez l'animal sont difficilement transposables chez l'être humain. Ainsi, la plupart des recherches concernant l'OT chez l'homme sont contraintes d'utiliser des mesures périphériques et partent du postulat que l'OT plasmatique reflèterait le niveau d'activité centrale de l'OT. Néanmoins, les investigations précédemment réalisées à ce sujet, n'ont trouvé de relation entre les concentrations d'OT périphérique et centrale. Cependant, les prélèvements d'ocytocine centrale ont été réalisés par ponction lombaire, technique médicale invasive connue pour générer un stress important à laquelle l'OT est extrêmement sensible. De plus, le Liquide Céphalo Rachidien (LCR) prélevé au niveau des lombaires pourrait avoir une composition différente que le LCR « cérébrale ». Par conséquent, nous proposons d'investiguer cette relation en évaluant la concentration centrale d'OT par des prélèvements de LCR réalisés directement dans le cerveau et simultanément à des prélèvements périphériques, lors d'une intervention neurochirurgicale.

Grâce à cette méthode, nous avons mis en évidence l'existence lors d'une chirurgie, d'une corrélation positive entre les concentrations périphériques et centrales d'OT remettant en cause l'indépendance des deux systèmes. Aussi, les concentrations cérébrales et plasmatiques de l'OT s'avèrent être toutes deux corrélées au niveau d'Extraversion des sujets.

Ainsi, bien que ces résultats restent préliminaires, ils suggèrent que les prélèvements centraux d'OT durant une intervention chirurgicale pourraient être une nouvelle piste d'investigation de la relation entre OT centrale et périphérique. De plus, nos données confortent la place de l'OT dans la physiologie de notre personnalité sociale en reproduisant les résultats précédemment obtenus et en les transposant directement au niveau central. Cela conforte l'idée que l'ocytocine pourrait être utilisée comme biomarqueur de la neurophysiologie du comportement social.

CSF oxytocin is correlated with plasma oxytocin in human patients.

Raphaëlle Mottolese*, Arthur Lefevre*, Nadia Merhoum, Carmine Mottolese, Angela Sirigu
*equally contributors

Abstract

Several studies have considered plasma oxytocin as an indicator of oxytocin's action in the brain and its effects on behavior. This was based on the assumption that peripheral oxytocin reflects the central action of this neuropeptide. However, no evidence has been provided so far to validate this hypothesis. On the contrary, several studies have failed to find such a correlation when comparing levels of plasma oxytocin with those measured in the cerebrospinal-fluid (CSF). Nevertheless in such studies CSF oxytocin was extracted through lumbar puncture, a method that puts the subject in a stressful condition. This procedure might have biased oxytocin measurements since we know that its concentration is influenced by stressful contexts. Here we test the hypothesis that peripheral oxytocin mirrors oxytocin's central action. We directly extracted oxytocin in the brain of 16 neurological patients under general anesthesia during brain surgery and compared this with samples of peripheral oxytocin obtained after blood withdraws. We also compared oxytocin and vasopressin concentrations. We found a significant correlation between plasma and CSF (central) oxytocin. Interestingly, CSF oxytocin and CSF vasopressin were correlated but no correlation was found between plasma and CSF vasopressin. We also observed that both plasma and CSF oxytocin were correlated with patients' degree of Extraversion as measured with the NEO PI-R inventory scale. Our results show that during surgery in human subjects, peripheral and central oxytocin are linked. Although our results should be confirmed in a larger population, these preliminary findings suggest that plasma oxytocin can be a marker of the hormone's central action. Furthermore they also strengthen the hypothesis that peripheral and central oxytocin are linked with social behavior.

1. Introduction

L'action de l'ocytocine au niveau périphérique et central

Que savons-nous de l'ocytocine ? Cette hormone est un peptide de 9 acides aminés qui est synthétisé par les neurones de deux noyaux de l'hypothalamus : le noyau para ventriculaire (PVN) et le noyau supra optique (SON). Les neurones magnocellulaires de ces deux noyaux projettent leurs axones dans la neurohypophyse, où ils peuvent libérer l'ocytocine dans le sang (Landgraf and Neumann 2004b). Il est important de noter que l'ocytocine endogène (i.e., produite naturellement par le corps) ne traverse pas la barrière hémato encéphalique de manière biologiquement significative (Mens, Witter, and Van Wimersma Greidanus 1983) (cela n'est pas vrai pour l'ocytocine exogène : une forte dose administrée en sous cutanée ou intra veineuse semble agir sur la concentration d'ocytocine centrale). A concentration naturelle, l'ocytocine périphérique ne semblerait donc pas avoir d'influence sur l'ocytocine centrale.

L'ocytocine a d'abord été connue pour son action périphérique lors de l'accouchement et de la lactation. Elle agit via un récepteur transmembranaire (chez l'homme, il n'existe qu'un seul type de récepteur à ocytocine) présent sur les cellules musculaires en augmentant la concentration calcique intracellulaire grâce à une protéine G associée au récepteur. Cela provoque la contraction des muscles liés à la lactation et l'accouchement.

Comme dit précédemment, l'ocytocine retrouvée dans le plasma est libérée dans la circulation sanguine par les axones des neurones du PVN et du SON qui aboutissent dans la neurohypophyse. Cette libération est action-dépendante, c'est-à-dire qu'il faut qu'un potentiel d'action atteigne l'arborisation terminale de l'axone pour entraîner l'exocytose des vésicules contenant l'ocytocine. Il a ainsi été montré chez le rat que la stimulation électrique du PVN provoque une augmentation de la concentration d'ocytocine dans le sang (Martínez-Lorenzana et al. 2008). Notons que certains organes produisent eux-mêmes de l'ocytocine, mais dans des proportions minimales par rapport à la neurohypophyse.

Depuis quelques décennies, la recherche s'est focalisée sur les effets comportementaux de l'ocytocine. Des expériences (pour une revue voir (Ross and Young 2009b)) montrent ainsi que l'ocytocine est impliquée dans les relations mères/enfants, dans les comportements d'affiliation et favorise les interactions sociales en améliorant la mémoire et la reconnaissance sociale (des visages chez l'homme, des odeurs corporelles chez la souris).

Outre le comportement social, l'ocytocine semble avoir une influence sur l'anxiété, son administration exogène ou son augmentation naturelle endogène réduisant le stress social (pour une revue voir (Neumann and Landgraf 2012)). Cet effet proviendrait du fait que l'ocytocine réduirait l'activité de l'amygdale (Huber et al. 2005).

L'ocytocine jouerait également un rôle dans la dépression (Neumann and Landgraf 2012), en agissant sur les symptômes anxieux hautement liés aux syndromes dépressifs.

Pour finir cette liste (non-exhaustive) des effets de l'ocytocine, on sait qu'elle est impliquée dans des effets aussi divers que la régulation de l'appétit (Sabatier et al. 2006), la douleur (Martínez-Lorenzana et al. 2008) ou encore la vitesse de progression de certaines maladies (Cassoni et al. 2004; Fekete et al. 2011).

Mécanismes de libération de l'ocytocine

Pour réaliser l'ensemble de ces effets, l'ocytocine n'agit pas uniquement comme un neurotransmetteur classique. Il est maintenant bien connu que les libérations centrale et périphérique d'ocytocine sont au moins en partie indépendantes (pour une revue voir (Ludwig and Leng 2006)). Nous avons vu que la libération périphérique suivait un schéma classique (suite à l'arrivée d'un potentiel d'action, des vésicules contenant de l'ocytocine sont libérées au niveau de l'arborisation terminale), en revanche, la libération centrale se fait par diffusion. Cela signifie que les neurones magnocellulaires (qui synthétisent la majorité de l'ocytocine) du PVN et du SON relâchent l'ocytocine par voie somato-dendritique. Les peptides ainsi libérés se propagent dans l'espace extracellulaire ainsi que dans le liquide céphalo-rachidien (LCR) et

atteignent des cibles intra ou extra-hypothalamique. L'ocytocine y agit non pas à la manière d'un neurotransmetteur (effet direct sur l'activité électrique de la cellule cible, spatio-temporellement précis), mais d'un neuromodulateur (action spatio-temporelle diffuse, effet à plusieurs niveaux (cellulaire et moléculaire) sur la cellule cible) (Stoop et al. 2012). Ainsi, la concentration d'ocytocine dans le LCR reflète le niveau global d'ocytocine centrale (Landgraf and Neumann 2004b). Des études (pour une revue, voir (Veening, De Jong, and Barendregt 2010b)) montrent que chez le rat (mais pas chez le cochon dinde par exemple) les récepteurs de l'ocytocine sont répartis dans de nombreuses régions, limbiques comme corticales. Cette distribution est variable car soumise à de nombreux facteurs (Veening, De Jong, and Barendregt 2010b), cependant, un grand nombre de ces récepteurs sont situés proches du LCR (i.e., proches des ventricules et de la cavité subarachnoïde), ce qui renforce l'hypothèse que le LCR est un transporteur de l'ocytocine centrale.

Il existe également des neurones parvocellulaires (donc plus petits et synthétisant une partie minime de l'ocytocine totale) qui utilise l'ocytocine comme un neurotransmetteur (et non un neuromodulateur). Cependant, les récepteurs à ocytocine ne sont pas toujours co-localisés avec ces projections, ce qui confirme le rôle du LCR et justifie le fait que ce liquide soit un marqueur adapté de l'activité ocytocinergique centrale.

Les récepteurs à ocytocine sont situés sur le soma d'inter-neurones et modifient l'excitabilité des neurones glutamatergiques et GABAergiques, influençant ainsi d'une manière générale un réseau de neurones (Stoop et al. 2012), et par conséquent la fonction réalisée par celui-ci.

Dans tous les cas, que l'ocytocine soit utilisée en tant que neurotransmetteur ou neuromodulateur, son récepteur est couplé à une protéine G. Trois types de protéine G ont été associées au récepteur de l'ocytocine: des protéines Gs qui stimule l'adénylate cyclase, des protéines Gi qui inhibe l'adénylate cyclase, et des protéines Gq/11. Selon la protéine G couplée au récepteur, l'ocytocine peut donc moduler l'activité de messagers intracellulaires comme la protéine kinase A (qui phosphoryle d'autres protéines) ou encore augmenter la concentration

intracellulaire d'ions calcium libres (Stoop et al. 2012). La variété de ces actions intracellulaires est donc cohérente avec la variété de ses actions comportementales.

Si les stimuli déclenchant une libération périphérique d'ocytocine sont largement décrits par la littérature, il semblerait que de nombreuses causes puissent entraîner une libération centrale.

Tout d'abord, les neurones produisant de l'ocytocine sont eux-mêmes sensibles à ce peptide, ainsi, si un neurone libère de l'ocytocine, une réaction en chaîne activera ses voisins puis se propagera à l'ensemble de la population du PVN ou du SON, ce qui entraînera une libération importante d'ocytocine (Ludwig and Leng 2006).

La libération initiale d'ocytocine peut quant à elle être provoquée par un grand nombre de potentiels d'actions (plusieurs centaines selon (Leng and Ludwig 2008)), ou d'autres molécules, comme le cortisol, sur lequel nous reviendrons plus tard en détail. Deux d'entre elles ont récemment attiré l'attention.

Au début des années 2000, une équipe met en évidence une régulation de la sécrétion d'ocytocine par la « alpha-melanocyte-stimulating hormone » (α -MSH), qui aurait pour effet d'augmenter la concentration intracellulaire de calcium ce qui entraînerait l'exocytose de grandes vésicules d'ocytocine. L'action de l' α -MSH se caractérise également par une inhibition du neurone ciblé, en libérant des endocannabinoïdes qui empêchent la libération de glutamate au niveau pré-synaptique (Sabatier et al. 2006). Cela résulte en une augmentation de la concentration d'ocytocine centrale, sans affecter la concentration périphérique.

En contraste à ce mécanisme influençant la concentration centrale uniquement, la libération d'ocytocine centrale peut aussi être médiée par le récepteur CD38 présent sur certains neurones du PVN (Jin et al. 2007). Dans ce cas, il ne semble pas y avoir de blocage de la libération périphérique, mais à l'inverse, une potentialisation (les vésicules contenant l'ocytocine se rapprocheraient de la membrane cellulaire suite à l'activation de messagers intracellulaires), qui

favoriserait une coordination entre les libérations centrale et périphérique d'ocytocine (Ludwig and Leng 2006).

Il est intéressant de noter que l' α -MSH a été décrite comme impliquée dans le comportement alimentaire et sexuel (Sabatier et al. 2006), et que lorsque le récepteur CD38 est supprimé, il en résulte une dégradation du comportement maternel et social chez la souris (Jin et al. 2007). Or, ces diverses fonctions étaient précédemment en partie attribuées à l'ocytocine (pour une revue voir (Ross and Young 2009).

Cela met en évidence le fait que plusieurs systèmes moléculaires régulent en amont les libérations centrales et périphériques d'ocytocine (d'une manière coordonnée ou non).

Ces études ont été principalement effectuées sur des rongeurs et ont montré diverses conséquences comportementales d'une altération du système ocytocinergique. Ces résultats ont attiré l'attention des scientifiques travaillant chez l'homme, qui se sont donc penchés sur ce peptide et ses effets comportementaux. Le LCR humain (qui reflète l'action centrale de l'ocytocine) étant difficile d'accès pour des raisons éthiques, la majorité des chercheurs ont préféré s'intéresser aux concentrations plasmatiques d'ocytocine.

Concentration d'ocytocine et comportement

Il existe actuellement des dizaines d'articles montrant une corrélation entre la concentration d'ocytocine périphérique et un trait de personnalité (e.g. l'extraversion), un comportement social (e.g. la coopération) ou d'autres effets attribués à l'ocytocine centrale. Par exemple dans le domaine de la personnalité sociale, il a été trouvé qu'il y avait moins d'ocytocine plasmatique chez les patientes borderline par rapport à des femmes normales (Bertsch et al. 2013), à l'inverse il y avait plus d'ocytocine chez les personnes en situation de confiance (Zak, Kurzban, and Matzner 2005b).

Dans le champs de la dépression, un article a montré qu'il y avait moins d'ocytocine chez les femmes enceintes, qui seront sujettes à des dépressions post-partum (l'ocytocine était

prédicatrice d'une éventuelle dépression post-partum) (Skrundz et al. 2011), tandis que plusieurs études montrent des corrélations entre les taux d'ocytocine et le niveau de dépression (Anderberg and Uvnäs-Moberg 2000; Scantamburlo et al. 2007b; Cyranowski et al. 2008).

(Pour une revue plus complète des liens entre l'ocytocine plasmatique et un effet comportemental voir (Ebstein et al. 2012b)).

Il faut noter qu'il existe tout de même quelques études qui ont investigué le lien entre la concentration d'ocytocine dans le LCR et des traits de comportements. Il semblerait donc que les femmes ayant subi des violences durant leur enfance, ainsi que les personnes ayant des comportements agressifs, auraient moins d'ocytocine dans leur LCR que des sujets contrôles (Heim et al. 2009; R. Lee et al. 2009).

Bien que toutes ces études confortent les résultats comportementaux classiquement attribués à l'ocytocine chez l'homme ou l'animal, aucune étude n'a démontrée que l'ocytocine contenue dans le plasma reflétait l'activité centrale de ce peptide (ce qui est le postulat de toutes les études s'intéressant à l'ocytocine plasmatique). Récemment, une étude suggérait que ce serait pourtant le cas (Andari et al. 2012b), les auteurs ont mis en évidence que non seulement l'ocytocine plasmatique était corrélée positivement au degré d'extraversion (mesuré par le questionnaire NEO PI-R), mais que ces deux variables (concentration d'ocytocine et degré d'extraversion) étaient toutes deux corrélées négativement à la taille de l'amygdale. Cela s'explique par le fait que l'amygdale est impliquée dans le contrôle de l'anxiété, et que l'ocytocine agit sur l'état anxiogène en inhibant l'activité du noyau central médian de l'amygdale (Huber et al. 2005). De plus les études anatomiques ont démontré (chez le rongeur) que ces deux régions possédaient des récepteurs à ocytocine (Gerald Gimpl and Fahrenholz 2001). On peut donc interpréter ces résultats en concluant que chez les personnes extraverties, il y a une forte concentration d'ocytocine centrale (l'amygdale est donc peu développée car très inhibée par le système ocytocinergique) et que cela se reflète par une concentration d'ocytocine plasmatique plus élevée.

Lien entre ocytocine centrale et périphérique

Plusieurs études ont tenté, sans succès, de montrer une corrélation entre les concentrations centrale et périphérique d'ocytocine. La première remonte à 1983 (Amico et al. 1983) où, bien que les auteurs n'aient pas tenté de corréler directement les concentrations d'ocytocine centrale et périphérique, ils montrent qu'il existe un pic d'ocytocine vers midi dans le LCR (lié au rythme circadien), mais cela ne s'observe pas dans le plasma. Il est donc important de prendre en compte l'heure de prélèvement lorsque l'on souhaite comparer les concentrations centrale et périphérique. Un autre article suggère que les femmes enceintes voient leur taux d'ocytocine plasmatique fortement augmenter sans que cela ne modifie la concentration dans le LCR (Takagi et al. 1985). Ce résultat a été reproduit dans une autre étude, qui n'a pas trouvé de corrélation linéaire entre les concentrations centrale et périphérique d'ocytocine (Takeda et al. 1985). Cela peut toutefois s'expliquer par le fait que les taux plasmatiques sont modifiés lors de la grossesse, et que les auteurs semblent avoir inclus des femmes enceintes dans leur corrélation (cela n'est pas précisé). Plus récemment, une équipe a reproduit les résultats précédents en montrant que les femmes enceintes avaient significativement plus d'ocytocine plasmatique ainsi qu'une tendance ($p < 0.08$) à avoir plus d'ocytocine dans leur LCR par rapport à des sujets contrôles (Altemus et al. 2004). Cependant, les auteurs n'ont pas trouvé de corrélation entre concentration centrale et périphérique d'ocytocine chez les femmes enceintes ou non. Enfin, l'année dernière, un article a mis en évidence un lien entre ocytocine et tendance suicidaire chez des patients hospitalisés après une tentative de suicide (Jokinen et al. 2012). Les auteurs ont ainsi trouvé une corrélation linéaire négative entre la concentration d'ocytocine du LCR et les intentions suicidaires (évaluées par questionnaire), la même corrélation a été établie entre la concentration d'ocytocine plasmatique et les intentions suicidaires. Mais ils n'ont pas trouvé de corrélation entre les concentrations d'ocytocine dans le LCR et le plasma dans aucun des groupes individuellement (patients suicidaires ou contrôles) ni sur l'ensemble des participants.

Cependant toutes ces études souffrent du même biais. Le LCR a en effet été systématiquement prélevé par ponction lombaire ce qui pose deux problèmes. Premièrement, la concentration d'ocytocine au niveau des lombaires ne représente pas forcément la concentration d'ocytocine au niveau des ventricules et de la cavité subarachnoïdienne car la vitesse de diffusion du LCR est plus faible dans la colonne vertébrale que dans le crâne, l'ocytocine pourrait y être moins présente car plus dégradée. De plus, on sait que des neurones parvocellulaires projettent leurs axones sur la moelle épinière (effet analgésique de l'ocytocine) (Martínez-Lorenzana et al. 2008) ce qui pourrait y fausser le taux d'ocytocine. Deuxièmement, et plus important encore, réaliser une ponction lombaire chez l'homme provoque un stress qui varie d'une personne à l'autre, or le stress a beaucoup d'influence sur les concentrations d'ocytocine. Donc les valeurs ainsi obtenues ne reflètent pas les niveaux de base de l'ocytocine, et il ne faut pas conclure à une absence totale de lien entre ocytocine centrale et périphérique. C'est pour cela que nous souhaitons étudier ce lien dans des conditions différentes d'une ponction lombaire, en prélevant directement dans la cavité subarachnoïdienne ou dans les ventricules cérébraux, pendant une opération chirurgicale.

Objectifs, intérêts et hypothèses

Au vu de l'ensemble des données présentées, nous avons de bonnes raisons de penser que notre protocole mettra en évidence une corrélation entre l'ocytocine contenue dans le LCR et dans le plasma.

Le premier argument est empirique : plusieurs études ont montré une corrélation entre l'ocytocine plasmatique et un trait de personnalité ou un comportement, qui dépend de l'action de l'ocytocine dans le système nerveux central, alors nous pouvons faire l'hypothèse que l'ocytocine plasmatique reflète l'action de l'ocytocine centrale (i.e., plus il y a d'ocytocine dans le sang, plus ce peptide est actif au niveau central).

Le second argument est que bien qu'il y ait plusieurs articles détaillant (chez l'animal) une libération indépendante d'ocytocine au niveau périphérique ou central, il y en a tout autant qui montrent une libération simultanée, ainsi qu'un lien de potentialisation entre la sécrétion d'ocytocine dans le sang et dans le LCR et le liquide extra cellulaire (Ludwig and Leng 2006). On peut ainsi penser que les concentrations dans le LCR et le sang sont liées sous certaines conditions. Nous pensons que lors d'une chirurgie, les systèmes central et périphérique sont tous deux activés car c'est une situation de stress intense (décharge axonale) et de longue durée (diffusion somato-dendritique).

Notre première hypothèse est donc que la concentration d'ocytocine dans le liquide céphalo-rachidien (LCR) est corrélée avec la concentration d'ocytocine plasmatique (dans le sang), en condition de stress chirurgical.

D'un point de vue théorique, on peut résumer le lien entre ocytocine centrale et périphérique comme cela : en conditions basales, les concentrations centrale et périphérique d'ocytocine pourraient être corrélées, cependant chacune (indépendamment de l'autre ou simultanément) de ces concentrations est susceptible d'être modifiée par un événement endogène (rythmes circadien et menstruel, appétit...) ou exogène (situation et contexte social, comportement sexuel, douleur...). Autrement dit, il est très difficile de prélever chez l'homme du sang et du LCR en conditions basales. La ponction lombaire n'est pas un état basal et conclure sur le rapport basal entre ocytocine périphérique et centrale à partir de telles mesures n'est pas correct. Ainsi, le principal apport de notre étude est que nos conditions de prélèvement seront différentes de celles d'une ponction lombaire, et bien qu'on ne puisse avoir accès aux conditions basales, on sait qu'il existe des situations de stress pendant lesquelles les concentrations centrale et périphérique d'ocytocine sont liées (Wotjak et al. 1998). C'est ce que cette expérience va chercher à démontrer.

Avant de détailler celui-ci, il est important de rappeler les enjeux et les intérêts de cette étude. Montrer qu'il peut exister une corrélation entre les concentrations centrale et périphérique d'ocytocine permettrait d'appuyer les résultats obtenus par les études se focalisant sur l'ocytocine périphérique, ce qui aurait des enjeux de santé publique important, puisque l'ocytocine plasmatique a été reliée aux tentatives de suicides, aux dépressions post-partum et aux dépressions en général ainsi qu'aux pathologies de l'autisme et de la schizophrénie. Sur le long terme, l'apport d'un marqueur biologique simple d'accès (prise de sang) pour toutes ces pathologies serait indéniable. Enfin, si les résultats sont concluants, les chercheurs pourront utiliser l'ocytocine plasmatique pour faire des hypothèses/conclusions sur l'ocytocine centrale.

C'est donc dans ce but que nous allons effectuer des prélèvements simultanés de LCR et de sang sur des patients dont l'état de santé nécessite une intervention chirurgicale. Les échantillons seront recueillis dès l'ouverture de la dure-mère et placés immédiatement dans de la glace pour éviter une trop forte dégradation des peptides avant qu'ils ne soient traités pour une conservation à longue durée. Le recrutement des patients et les prélèvements physiologiques seront effectués par le service de Neurochirurgie du Docteur Carmine Mottolese à l'hôpital Neurologique de Lyon. Les échantillons seront analysés au laboratoire du Centre de Neurosciences Cognitives par test ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*).

Nous allons également faire passer aux patients le NEO PI-R (inventaire de personnalité révisé) qui est un test permettant d'évaluer quantitativement divers aspects de la personnalité sociale. *Nous espérons ainsi reproduire les résultats obtenus récemment par notre équipe (Andari et al. 2012), à savoir une corrélation entre l'extraversion et la concentration d'ocytocine plasmatique, mais aussi tester l'hypothèse que la concentration d'ocytocine dans le LCR est également corrélée avec le degré d'extraversion.*

Cette approche est originale et n'a pas encore été utilisée. Elle nous permettra donc d'obtenir des données inédites qui éclairciront la relation entre l'ocytocine périphérique et centrale.

De ce fait, bien que nous nous focaliserons sur l'ocytocine, nous souhaitons également explorer la relation centrale/périphérique et le lien avec la personnalité sociale que peuvent avoir d'autres hormones et neurotransmetteurs, qui interagissent avec l'ocytocine tels que le cortisol et la vasopressine.

Interactions entre ocytocine, vasopressine et cortisol

Nous nous intéresserons au cortisol car nous allons voir qu'il pourrait jouer un rôle dans la concentration d'ocytocine. Ce glucocorticoïde est considéré comme étant l'hormone du stress au niveau périphérique chez l'homme. Il est le dernier maillon de l'axe Hypothalamo-Pituitaire-Adrénal (HPA). Lors d'un stimulus stressant, l'hypothalamus sécrète de la corticolibérine (CRH) qui va à son tour stimuler la glande pituitaire et déclencher la libération d'hormone corticotrope (ACTH). Cette dernière va se diffuser au niveau périphérique et va agir au niveau des glandes surrénales qui vont libérer le cortisol dans la circulation sanguine. Les principales actions du cortisol préparent le corps pour qu'il réagisse au stress, par exemple en augmentant la glycémie ou encore en modifiant le rythme circadien. En plus de ces actions, le cortisol exerce un rétrocontrôle négatif sur l'axe HPA en inhibant la sécrétion d'ACTH au niveau de l'hypophyse et celle de CRH au niveau de l'hypothalamus (Herman et al. 2003).

Récemment, la littérature a suggéré que l'augmentation du taux de cortisol provoquait une augmentation du taux d'ocytocine (Tops et al. 2012). De plus, il a été montré qu'il existe un système de rétrocontrôle entre la CRH et l'ocytocine (Dabrowska et al. 2011). L'hypothèse avancée par la majorité des auteurs est que l'ocytocine est impliquée dans la régulation de l'axe HPA et permet de diminuer l'anxiété lors d'une situation stressante. Ainsi, l'administration d'ocytocine avant une situation stressante réduit l'augmentation du taux de corticostérone qui

en découle chez le rat (Windle et al. 1997a). Par ailleurs, l'augmentation de la concentration de glucocorticoïdes (suite à un stress ou une injection de dexaméthasone) modifie la quantité de récepteur à ocytocine dans plusieurs zones du système limbique (Liberzon and Young 1997). L'axe HPA et l'ocytocine entretiennent une interaction complexe (probablement à plusieurs niveaux), et la littérature manque de données sur l'homme, c'est pourquoi nous avons décidé de mesurer la quantité de cortisol de nos échantillons.

Mesurer le taux de cortisol nous permettra non seulement d'apporter de nouvelles données sur lien entre l'ocytocine et le cortisol, mais également de contrôler que l'éventuelle relation entre l'ocytocine centrale et périphérique ne soit que le reflet d'un effet du cortisol.

Notre seule hypothèse est donc que les concentrations de cortisol (centrale et plasmatique) n'expliqueront pas (ne seront pas corrélées) la relation entre les concentrations d'ocytocine centrale et périphérique. Nous mènerons des analyses statistiques exploratoires afin de repérer d'éventuels liens entre le cortisol et les autres variables mesurées.

Enfin, nous mesurerons les concentrations de vasopressine car c'est un analogue de l'ocytocine (seulement deux acides aminés sur neuf de différents), elle est synthétisée par les mêmes noyaux de l'hypothalamus (le PVN et le SON) et ainsi impliquée dans des effets similaires comme l'affiliation, les réactions sociales et le comportement parental.

En comparaison avec le nombre d'article sur l'ocytocine, les publications sur les effets de la vasopressine sur l'homme sont peu nombreuses (pour une revue voir (Heinrichs and Domes 2008)). Chez le rat, il a été mis en évidence une co-augmentation de la vasopressine et de l'ocytocine dans l'hypothalamus suite à un stress (Wotjak et al. 1998). En revanche seule l'ocytocine augmentait simultanément dans le plasma.

Nous faisons donc l'hypothèse que le taux de vasopressine dans le LCR sera corrélé avec le taux d'ocytocine dans le LCR, mais pas avec le taux de vasopressine plasmatique.

Par ailleurs les résultats seront à interpréter avec précautions, car la vasopressine pourrait être affectée par les produits modifiant la pression sanguine des patients. L'effet de ces produits sera donc évalué.

Cette étude a pour objectif d'apporter de nouvelles connaissances sur le lien entre l'ocytocine centrale et périphérique d'une part, et d'autre part d'étudier les relations entre cette hormone et d'autres variables physiologiques (cortisol et vasopressine) et comportementales (extraversion). Ces données seront intéressantes en vue de l'intérêt thérapeutique grandissant de l'hormone dans le cadre biomédical.

2. Méthode

2.1. Participants

Recrutement des patients

16 personnes (7 hommes et 9 femmes, âge moyen $36.8 \pm \text{sd } 16.5$, range 20-81) ont accepté de prendre part à cette étude. Ces personnes étaient des patients de l'unité 501 de neurochirurgie devant subir une chirurgie (pour diverses raisons : tumeurs, problème d'écoulement du LCR...) permettant l'accès au liquide céphalo-rachidien. Ils ont été recrutés à l'hôpital Neurologique de Lyon, lors de la consultation préopératoire. Tous les participants ont signé un consentement écrit, et aucun n'a déclaré avoir des antécédents psychiatriques. Aucun des patients sollicités n'a refusé de participer.

Les patient ayant des antécédant neurologiques, psychiatriques, dépressifs ou cardiovasculaires non liés à leur opération (i.e, à leur pathologie actuelle) ainsi que les personnes tabagiques consommant plus de 15 cigarettes par jour, consommant de l'alcool ou des drogues de façon excessive ne peuvent être inclus dans l'étude

Cette étude a reçu l'accord du CPP sud Rhône Alpes.

Pathologies

Plusieurs patients ayant participé à l'étude souffraient de tumeurs (épendymome (1), cavernome (4), neurinome (1), craniopharyngiome (1), kyste colloïde (1) ou métastase (1)). D'autres patients étaient atteints d'hydrocéphalie (3), d'un problème d'écoulement du LCR (2) de brèche sinusienne (1), ou d'une affection plus générale (malformation de naissance) (1). Dans le cas des tumeurs, les lésions se trouvaient toutes dans le cortex (sauf pour le craniopharyngiome qui touche par définition l'hypothalamus et l'hypophyse, ainsi que le neurinome qui est une affection du nerf crânien VIII et le kyste colloïde situé dans un ventricule latéral).

Nous avons décidé de ne pas séparer nos sujets en plusieurs groupes, car seul un sujet possède une lésion de l'hypothalamus, et ses valeurs sont très proches de la moyenne dans toutes les variables. Une analyse à partir des IRM anatomiques permettra de contrôler que les différentes lésions n'ont pas eu d'effets sur les taux d'ocytocine.

2.2. Protocole

Pour tester nos hypothèses nous avons récolté des données comportementales afin d'évaluer la personnalité sociale des patients, des données physiologiques pour évaluer les concentrations périphériques et centrales des hormones ainsi que des informations générales (récupérées dans les dossiers des patients) afin de contrôler divers facteurs. Enfin nous avons récupéré les IRM anatomiques.

Mesures comportementales : NEO PI-R et PANAS

i) Evaluation de la personnalité des sujets par le NEO PI-R

Afin de mesurer le niveau de sociabilité des participants nous avons utilisé la version française (adaptation par Jean-Pierre Roland) en auto-évaluation de l'échelle NEO PI-R (Névrosisme Extraversion Ouverture Inventaire de Personnalité Révisé) créée en 1990 et dérivant de

l'échelle NEO-PI à laquelle ont été rajoutés les domaines d'Agréabilité (A) et de Conscience (C) (McCrae et al. 1991).

Le NEO PI-R (Costa et al. 1992) est un inventaire qui évalue 5 dimensions de la personnalité sociale : le Névrosisme (tendance à avoir des émotions négatives et instabilité émotionnelle), l'Extraversion (tendance à apprécier les interactions sociales, le temps passer avec autrui), l'Ouverture (tendance à avoir une imagination active, une curiosité intellectuelle, esthétique, à essayer des choses nouvelles), l'Agréabilité (tendance à être conciliant, à avoir de la compassion, de la confiance dans ses relations avec les autres) et la Conscience (tendance à avoir de la discipline, à mener à terme ses entreprises).

Chacune des dimensions comporte 6 facettes, composées elle-même de 8 items. En tout, il y a donc 240 questions, réparties dans 30 facettes

Le sujet répond à chaque question par Fortement en Désaccord, en Désaccord, Neutre, D'accord ou Fortement D'accord. Il obtient ainsi entre 0 et 4 points. Les scores des 8 items sont additionnés pour donner un score global à la facette correspondante. Ainsi le score obtenu pour une facette s'étend de 0 à 32. Les scores des facettes sont ensuite additionnés pour donner le score final au domaine correspondant, qui s'étend de 0 à 192. Enfin, ce score brut est transformé en note T à l'aide d'une échelle qui permet de normaliser les domaines sur une même échelle et de prendre en compte les différences liées au sexe du sujet.

Les patients ayant accepté de participer à l'étude ont donc rempli le NEO PI-R (exceptés quelques uns ayant refusé (1) ou ne pouvant pas le remplir (4)) avant (5) ou après l'opération (7). Nous devons donc contrôler si l'effet pré ou post opération a eu un impact sur les réponses.

ii) Evaluation de l'état émotionnel des patients : PANAS

Par ailleurs, les patients ont rempli le PANAS (Positive And Negative Affect Schedule), qui est un test rapide permettant de décrire l'état émotionnel dans lequel ils se trouvaient juste avant de

remplir le NEO PI-R. Ce questionnaire de 20 items mesure les dimensions positives et affectives des affects. Il nous permettra de comprendre le contexte dans lequel le NEO PI-R a été rempli.

Données physiologiques : ocytocine, cortisol, vasopressine au niveau du plasma et du LCR

La réalisation des prélèvements (LCR et plasmatique) était effectuée sous la direction du neurochirurgien en collaboration avec l'équipe du bloc opératoire, et n'entraînait aucun risque pour le patient.

L'intégralité des prélèvements a été effectuée pendant un acte chirurgical sous anesthésie générale après une nuit de jeûne. Afin de garder des conditions physiologiques identiques, les prélèvements de LCR (par le neurochirurgien) et de sang (par le médecin anesthésiste) ont été réalisés au même moment.

i) Réalisation des prélèvements périphériques et centraux

Prélèvement du liquide céphalo-rachidien (LCR)

5 mL de Liquide céphalo-rachidien ont été prélevés dans un tube en polypropylène de 5mL (SARSTEDT ref 62.558.201). Ce prélèvement était effectué au début de l'opération, dès que la dure mère était ouverte, que la valve ou le ventricule étaient atteints.

Les prélèvements ont été effectués au niveau de la cavité subarachnoïdienne (8 prélèvements), à la sortie d'une valve de dérivation du LCR (5 prélèvements), à l'intérieur d'un ventricule (4 prélèvements) ainsi qu'au niveau des vertèbres cervicales (1 prélèvement).

Prélèvement du sang

5 mL de sang ont été prélevés dans un tube EDTA (pour empêcher la coagulation). Les médecins anesthésistes ont effectué ces prélèvements de sang en parallèle des prélèvements de

LCR, en réalisant une prise de sang sur le pied du patient, car c'est une zone sans cathéter (par lesquels passent certains produits anesthésiant) et aussi une des plus accessibles.

Traitement et conservation des échantillons

Le tube de LCR et le tube EDTA étaient placés dans le même délai dans un sac isotherme rempli de glace, afin d'empêcher la dégradation de l'ocytocine, de la vasopressine et du cortisol (sans toutefois congeler les fluides).

Une fois prélevés les échantillons étaient amenés immédiatement au laboratoire Neurobiotec (laboratoire spécialisé dans le traitement et la conservation d'échantillon de liquide ou de tissus humains) présentant l'avantage de se situer 3 étages en dessous du bloc opératoire, et donc permettant d'optimiser le temps de traitement.

Là bas, les échantillons étaient traités et conservés selon le procédé suivant : centrifugation à 2000 g pendant 10 minutes à 4°C, récupération du liquide surnageant (c'est-à-dire le plasma pour le sang) et congélation à -70°C. Les échantillons ont été séparés en plusieurs aliquotes afin de ne pas avoir à décongeler/recongeler plusieurs fois les tubes lors des tests ELISA. Dans la mesure du possible, nous avons obtenu 2 tubes de 1,5mL de LCR et 2 tubes de 1.5mL de plasma provenant des échantillons transportés dans la glace. Le temps moyen entre le prélèvement et la mise au congélateur (de Neurobiotec) à -70°C était de 53.22 minutes \pm sd 18.62, range 30-117.

Analyse des échantillons par dosages ELISA (ocytocine, cortisol et vasopressine)

Lorsque la phase de prélèvement se termina, l'ensemble des échantillons furent amenés depuis Neurobiotec au congélateur à -70°C du Centre de Neurosciences Cognitives, en maintenant les échantillons congelés grâce à de la glace carbonique. Les tests ELISA ont été réalisés au laboratoire avec des produits vendus par la société Enzo Life Sciences (ref : ADI-900-153 pour l'ocytocine, ADI-900-017 pour la vasopressine et ADI-900-153 pour le cortisol).

Pour chaque molécule, tous les échantillons ont été analysés sur une seule plaquette ELISA afin d'éviter la variabilité inter-plaque. L'intégralité des échantillons a été dupliquée (c'est-à-dire qu'un échantillon était testé dans deux puits différents).

En ce qui concerne la plaque de dosage ocytocine, la variabilité intra-test (entre deux puits contenant le même échantillon) était de : 9.7%. Ce test robuste a déjà été utilisé pour doser du LCR (Martínez-Lorenzana et al. 2008), ainsi que du plasma dans de nombreuses études.

Concernant le cortisol, le traitement des échantillons nécessite une dilution préalable (1:25) car les concentrations humaines normales de cortisol sont supérieures à la gamme étalon proposée par le kit (nous l'avons tout de même choisi car c'est l'un des plus robustes). Il s'agit d'une procédure standard d'utilisation de ce kit ELISA pour des échantillons humains. La variabilité intra-test de cette plaque était de 7.0%.

Le dosage de la vasopressine ne nécessite pas de dilution, la variabilité intra-test était de 7.7%.

ii) Contraintes inhérentes à l'acte chirurgical

Il est parfois arrivé que suite à une contrainte médicale, les échantillons aient été prélevés avec quelques minutes de décalage (temps moyen 5.1 min sd \pm 5.6).

Les interventions étant programmées à des horaires indépendamment de notre volonté, les prélèvements ont eu lieu à différents moments de la journée : 7 le matin (entre 9h et 12h), 4 le midi (entre 12h et 14h) et 7 l'après midi (entre 14h et 19h). Nous avons donc trois groupes horaires, ce qui nous permettra de contrôler ce facteur.

Enfin l'opération implique une anesthésie générale, nous avons donc relevé la liste et la quantité des produits utilisés pour chaque patient afin de pouvoir contrôler l'effet de chacun d'eux.

iii) Imagerie anatomique

Les IRM anatomiques des patients (lorsqu'elles existaient) ont été récupérées au service de radiologie de l'hôpital Neurologique de Bron, afin de pouvoir localiser précisément les lésions cérébrales dont souffraient les patients. Des reconstructions des tumeurs sont disponibles Figure 1.

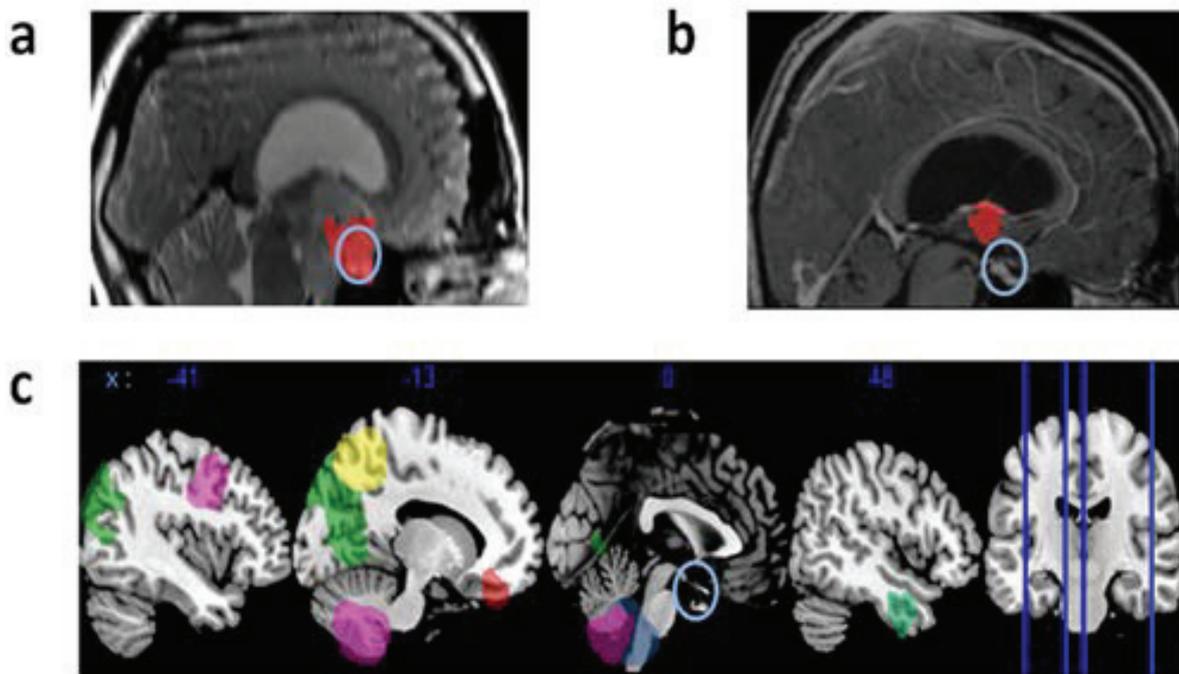


Figure 1. Imagerie Anatomique des patients. a) IRM anatomique du patient atteint d'un craniopharyngiome (touchant l'hypothalamus). La tumeur est en rouge, le cercle bleu entoure la région hypothalamo-hypophysaire. b) IRM d'un patient atteint d'un kyste colloïde. Le kyste est en rouge, le cercle bleu entoure la région hypothalamo-hypophysaire. Le système hypothalamo-hypophysaire n'est donc pas directement touché, le kyste se développant vers l'intérieur des ventricules latéraux c) coupes d'une projection des lésions des 6 patients atteints d'une tumeur sur un cerveau cerveau type (espace MNI). Chaque couleur représente un patient. Les valeurs de x, représentent la position de la coupe par rapport à l'axe coronal. La troisième image montre que le système hypothalamo-hypophysaire (entouré en bleu) n'était pas affecté par ces pathologies. La cinquième image montre la disposition des coupes sur un plan transversal.

2.3. Procédure expérimentale

Les patients ont été sélectionnés et recrutés par le docteur Carmine Mottolese qui jugeait de la faisabilité du prélèvement, et de sa non dangerosité ainsi que du respect des critères d'inclusion à l'étude. Nous les rencontrons ensuite lors de leur arrivée à l'hôpital Neurologique en leur exposant notre protocole et les enjeux de notre projet.

Après signature des consentements, nous leur donnions à remplir une fiche d'information afin de pouvoir contrôler la taille (m 168 cm, sd 12.3, range 148-186), le poids (m 72.5 kg, sd 20.3, range 43-131), le moment du cycle menstruel pour les femmes ainsi que le niveau d'étude.

La passation du PANAS et du NEO PI-R se faisait avant ou après l'opération selon l'état émotionnel du patient (e.g, les patients très anxieux le passaient après).

Après l'intervention, nous avons récupéré le dossier du patient afin de relever les produits anesthésiques employés durant la chirurgie. Cela nous permettait également d'avoir une vision précise de la pathologie du patient.

Enfin nous nous sommes procurés les IRM anatomiques des patients directement dans le dossier ou au service de neuroradiologie.

2.4. Analyses statistiques

Les tests ELISA donnent des densités optiques qui sont convertis en logarithme de concentration via une transformation linéaire définie par la courbe d'étalonnage propre à la plaque. Nous avons décidé de mener nos analyses statistiques sur ces logarithmes de concentration afin d'éviter de transformer nos données brutes et donc perdre des degrés de liberté dans l'analyse. De plus toutes les hormones seront sur la même unité.

Nous réaliserons une matrice de corrélations pour les 6 variables physiologiques (n = 18) : ocytocine, vasopressine et cortisol centraux et périphériques. Nous utiliserons des tests de corrélation paramétrique (Pearson) ou non-paramétrique (Spearman) en fonction du caractère Gaussien ou non-Gaussien des différentes distributions.

L'utilisation d'une matrice de corrélation implique l'utilisation d'une correction pour contrôler le biais des multiples tests statistiques. Nous appliquerons donc la correction de Bonferroni. Cette méthode nous permettra de détecter d'éventuels liens non prévus entre hormones. En ce qui concerne les résultats comportementaux ($n = 11$), nous réaliserons une matrice de corrélations entre les variables physiologiques (6) et les variables comportementales (5). Nous faisons l'hypothèse que l'extraversion est corrélée avec l'ocytocine centrale ainsi que l'ocytocine périphérique. De même que pour la matrice de corrélations sur les données physiologiques, il faudra corriger les p-value là où nous n'avons pas d'hypothèses au préalable avec la correction de Bonferroni. Les p-value de l'analyse exploratoire seront dans ce cas multipliées par 30 (le nombre de test dans cette matrice). Cette correction est très forte mais c'est un moyen sûr d'éviter les faux positifs (nous sommes toutefois conscients qu'elle peut engendrer des faux négatifs).

3. Résultats

3.1. Ocytocine centrale et périphérique

Nos analyses ont révélé une corrélation positive significative entre les logarithmes de concentration d'ocytocine dans le Liquide Céphalo-Rachidien et dans le plasma (test de Pearson : coefficient de corrélation $r = 0.7892$; $p = 0.003$, $p_{corrected} < 0.05$). Nous avons une hypothèse préalable sur cette relation, il n'y a donc pas besoin de lui appliquer la correction de Bonferroni, néanmoins cette relation reste significative après l'application de la correction de Bonferroni, montrant la solidité statistique de cette corrélation (Figure 2).

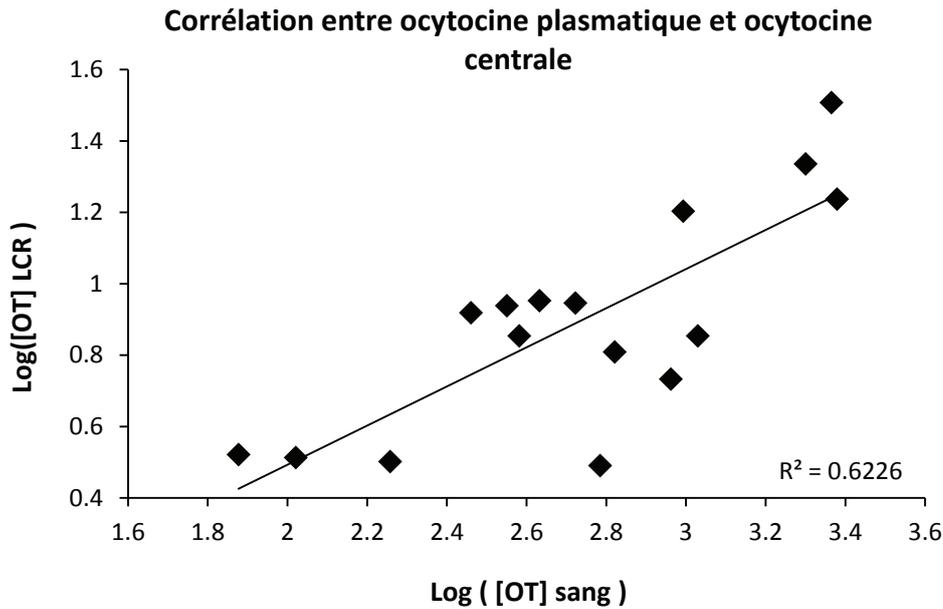


Figure 2. Ocytocine centrale et périphérique.

Corrélation linéaire positive entre les logarithmes des concentrations d'ocytocine dans le LCR et le plasma, $R^2 =$ coefficient de détermination, test de Pearson : coefficient de corrélation $r = 0.7892$; $p = 0.003$, $p_{corrected} < 0.05$

3.2. Ocytocine et vasopressine

Une corrélation positive entre les logarithmes des concentrations de la vasopressine dans le LCR et de l'ocytocine dans le LCR a été trouvée (test de Pearson : coefficient de corrélation Pearson: $r = 0,8331$; $p = 0,00006$, $p_{corrected} < 0.05$) (Figure 3.). Nous avons une hypothèse préalable sur cette relation, il n'y a donc pas besoin de lui appliquer la correction de Bonferroni, néanmoins cette relation reste significative après l'application de la correction de Bonferroni, montrant la solidité statistique de cette corrélation.

Corrélation entre les concentrations d'ocytocine et de vasopressine centrales

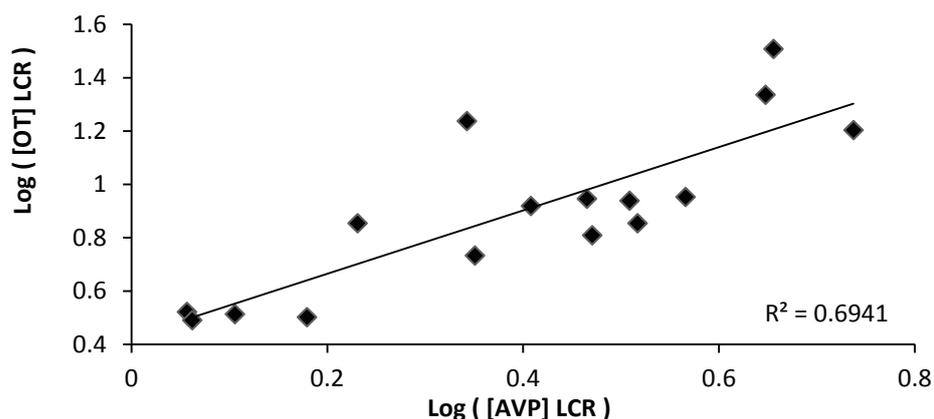


Figure 3. Ocytocine et vasopressine dans le LCR

Corrélation linéaire entre les logarithmes des concentrations d'ocytocine et de vasopressine dans le LCR, R^2 = coefficient de détermination, test de Pearson : coefficient de corrélation Pearson: $r = 0,8331$; $p = 0,00006$, $p_{corrected} < 0.05$.

3.3. Ocytocine et extraversion

i) Ocytocine périphérique et extraversion

En accord avec nos hypothèses, nos analyses ont mis en évidence une corrélation positive significative entre le logarithme de la concentration d'ocytocine plasmatique et l'Extraversion (Pearson : $r = 0.76$, $p = 0.007$, $p_{corrected} < 0.05$) (Figure 4. A).

Aucune corrélation significative n'est ressortie entre le logarithme de la concentration d'ocytocine plasmatique et les facettes (sous divisions) de l'Extraversion. Nous avons cependant observé des tendances entre l'ocytocine plasmatique et trois des six sous domaines de l'extraversion : la grégarité $p = 0.09$, l'activité $p = 0.09$ et la recherche de sensation $p = 0.06$. Ces tendances disparaissent une fois la correction de Bonferroni appliquée (ici $p_{corrigée} = p * 6$).

ii) Ocytocine centrale et extraversion

Nous avons trouvé une corrélation positive significative entre le logarithme de la concentration d'ocytocine dans le LCR et l'Extraversion (test de Pearson : coefficient de corrélation Pearson : $r = 0.64$, $p = 0.035$) (Figure 4. B.).

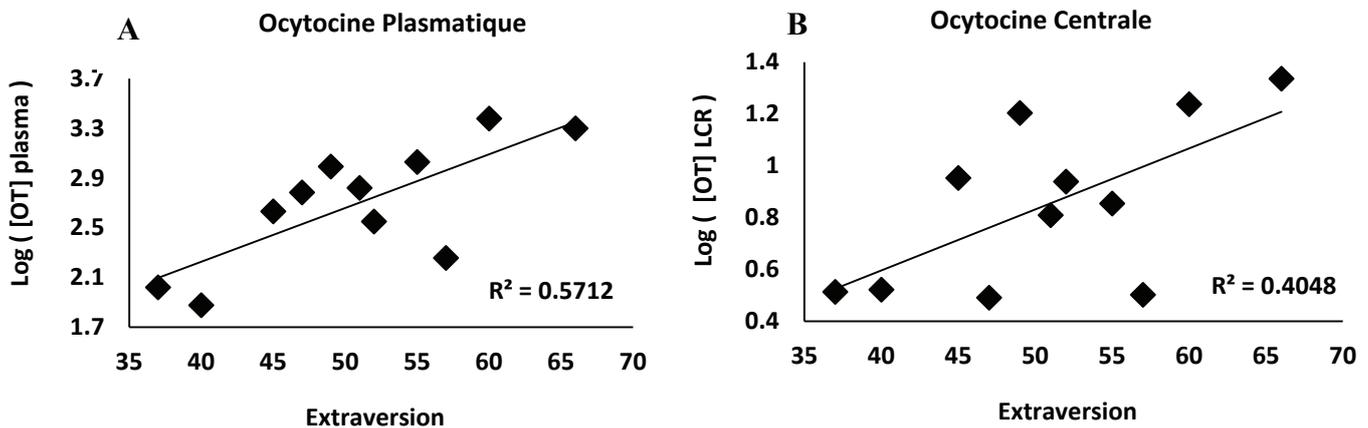


Figure 4. Relation entre ocytocine plasmatique et centrale et l'Extraversion des patients

Corrélation linéaire entre le logarithme de la concentration d'ocytocine et le degré d'Extraversion mesuré par le NEO PI-R A) dans le plasma, test de Pearson : $R^2 =$ coefficient de détermination, $r = 0.76$, $p = 0.007$, $p_{corrected} < 0.05$ et B) dans le LCR, $R^2 =$ coefficient de détermination, test de Pearson : coefficient de corrélation $r = 0.64$, $p = 0.035$

Aucune corrélation significative n'est ressortie entre le logarithme de la concentration d'ocytocine dans le LCR et les facettes (sous divisions) de l'Extraversion.

3.4 Analyse exploratoire sur l'ocytocine, le cortisol, la vasopressine et le NEO PI-R

Une fois nos hypothèses étudiées, nous avons recherché s'il n'y avait pas d'autres liens entre les hormones étudiées. De plus nous avons aussi regardé si les domaines du NEO PI-R corrélaient avec des variables physiologiques.

- **Données physiologiques**

Nous avons réalisé une matrice de corrélations (tableau 1) dans laquelle les tests statistiques utilisés sont des tests de Pearson lorsque les distributions des deux valeurs comparées sont normales, et des tests de Spearman lorsque l'une ou les deux distributions ne sont pas normales.

Hormones		Ocytocine		vasopressine		Cortisol	
		Log[LCR]	Log[plasma]	Log[LCR]	Log[plasma]	Log[LCR]	Log[plasma]
Ocytocine	Log[LCR]		r = 0.72 p = 0.0008	r = 0.83 p = 0.00002	r = -0.08 n.s	rho = .18 n.s	r = -.11 n.s
	Log[plasma]			r = 0.49 p = 0.039	r = 0.42 p = 0.08	rho = -.22 n.s	r = -.23 n.s
Vasopressine	Log[LCR]				r = -0.04 n.s	rho = .32 n.s	r = .07 n.s
	Log[plasma]					rho = -.24 n.s	r = .25 n.s
Cortisol	Log[LCR]						rho = .36 n.s
	Log[plasma]						

Tableau 1 Matrice de corrélations entre les 6 variables physiologiques mesurées. Les p-values sont indiquées sans la correction de Bonferroni. r = coefficient de corrélation de Pearson (paramétrique), rho = coefficient de corrélation de Spearman (non paramétrique), n.s = non significatif (p > 0.1). Les cases colorées en vert indiquent les résultats qui ont déjà été discutés en 4.1. et 4.2.

i) Vasopressine

Nous n'avons pas trouvé de corrélation entre les logarithmes des concentrations de vasopressine dans le LCR et dans le plasma (test de Pearson : coefficient de corrélation $r = -0.04$, p non significatif) (tableau 1).

Il y a une corrélation positive entre les logarithmes des concentrations de vasopressine dans le LCR et d'ocytocine dans le plasma (test de Pearson : coefficient de corrélation $r = 0.49$, $p = 0.039$) (tableau 1). Cette corrélation n'est plus significative une fois la correction de Bonferroni appliquée ($p = 0.59$).

Nous observons une faible tendance à une corrélation positive entre les logarithmes des concentrations de la vasopressine dans le plasma et de l'ocytocine dans le plasma (test de

Pearson : coefficient de corrélation $r = 0.42$, $p = 0.08$) (voir tableau 1). Cette tendance disparaît lorsque l'on applique la correction de Bonferroni (que nous appliquons car nous n'avons pas d'hypothèse préalable sur la corrélation de ces deux variables).

ii) Cortisol

Nous n'avons pas trouvé de corrélation entre les logarithmes des concentrations de cortisol dans le LCR et dans le plasma. De plus, ces deux variables ne montrent pas de corrélations avec aucune des autres molécules mesurées (test de Spearman) (tableau 1).

- Données comportementales

Nous avons réalisé une matrice de corrélation entre l'ensemble des variables physiologiques (i.e. les logarithmes des concentrations d'ocytocine, de vasopressine et de cortisol dans le LCR et le plasma) et l'ensemble des variables comportementales (Névrosisme, Extraversion, Ouverture, Agréabilité et Conscience). Aucune corrélation significative n'a été enregistrée (voir annexe 5), hormis celles déjà décrites entre l'Extraversion et les logarithmes des concentrations d'ocytocine dans le LCR et dans le plasma (voir 4.3.). L'application ou non de la correction de Bonferroni ne change rien à cette absence de corrélation (nous ne sommes donc pas dans le cas d'une correction trop forte entraînant de faux négatifs).

De plus, nous n'avons pas relevé d'anomalies particulières dans l'état de passation de nos sujets, car le questionnaire PANAS n'a pas révélé d'états émotionnels hors normes chez les patients ayant remplis le NEO PI-R.

3.4. Caractéristiques de nos résultats

i) Statistiques descriptives

Avant de réaliser nos tests statistiques, nous avons vérifié la distribution de nos données physiologiques et comportementales, et comparé les valeurs comportementales de notre échantillon (n=11) à la valeur de référence (obtenue sur un échantillon représentatif de 800 personnes (*adaptation française du NEO PI-R par J-P Rolland*)). Nous avons également comparé les variables âge, poids et taille (en séparant homme et femme) à la moyenne française. Hormis la variable Ouverture du NEO PI-R, aucune différence significative par rapport aux moyennes de références n'est ressortie. Les concentrations moyennes pour l'ocytocine, la vasopressine et le cortisol (Table 1) ont été obtenues à partir des logarithmes issus de la courbe d'étalonnage. Il n'existe pas de valeur de référence pour ce variable, nous les mettrons cependant en lien avec la littérature dans la discussion.

Table 1. Concentrations périphériques et centrales de l'ocytocine, la vasopressine et le cortisol

Biomarkers	Concentrations		
	Localisation	Distribution	Value
Ocytocine	LCR	normale	10,18 pg/mL
	<i>Plasma</i>	normale	835,34 pg/mL
Vasopressine	LCR	normale	2,97 pg/mL
	<i>Plasma</i>	normale	118,8 pg/mL
Cortisol	LCR	non normale	3,54 ng/mL
	<i>Plasma</i>	non normale	19,06 ng/mL

ii) Lieu et heure de prélèvement

L'heure du prélèvement n'a pas d'influence sur les variables physiologiques (ANOVA paramétrique et ANOVA de Kruskal-Wallis). En revanche, le lieu du prélèvement pourrait

avoir tendance à influencer le taux d'ocytocine centrale (ANOVA : $F(2, 14)=3.46$, $p=.06$), des tests post hoc ont confirmé cette tendance à ce qu'il y ait plus d'ocytocine dans les échantillons ayant été prélevés dans la cavité subarachnoïde par rapport à ceux prélevés dans une valve ($p = 0.087$). Le lieu du prélèvement semblerait également influencer le taux de cortisol dans le LCR (ANOVA de Kruskal-Wallis : $H(2, N= 16)=7.69$, $p =.021$), un test de Mann-Whitney montre qu'il y aurait plus de cortisol dans les échantillons ayant été prélevés dans la cavité subarachnoïde par rapport à ceux prélevés dans une valve ($p = 0.017$).

iii) Produits anesthésiants

Nous avons menés des tests de comparaison de groupes (t test de Student ou test U de Mann-Whitney), pour chaque médicament utilisé, et pour chaque variable. Aucune différence significative n'est ressortie, hormis un effet du liquide de Ringer sur la concentration de cortisol plasmatique ($Z = 2.96$, $p = 0.003$). Compte tenu du nombre de tests (66) effectués pour trouver cet effet, il est nécessaire d'utiliser la correction de Bonferroni qui enlève à cette différence sa significativité statistique (p -corrigé = 0.20).

iv) Pathologies des patients

Des analyses ont été menées afin de voir si la pathologie des patients a influencé les taux d'ocytocine. Nous avons séparé les sujets en plusieurs catégories (tumeurs dans le cortex, hydrocéphalies, problèmes de valves, tumeurs proches du système limbique) mais aucun groupe ne s'est révélé différent des autres (ANOVA de Kruskal-Wallis). Les IRM anatomiques des patients ayant des lésions sont représentées dans la Figure 1.

Par ailleurs, le patient ayant un craniopharyngiome (et donc le seul ayant son hypothalamus directement affecté) possédait des taux proches de ceux des autres sujets. Nous ne l'avons donc pas exclu de notre analyse. Son IRM est séparée des autres (Figure 1).

4. Discussion

Nous avons récolté des échantillons de plasma et de LCR (Liquide Céphalo-Rachidien) au cours d'opérations chirurgicales sur des patients de l'hôpital Neurologique. L'enjeu de ce travail était d'étudier la relation entre l'ocytocine centrale et périphérique afin d'appuyer les nombreux articles mesurant l'ocytocine dans le plasma pour rendre compte d'un effet central de cette hormone.

Nous interpréterons d'abord nos résultats physiologiques puis comportementaux, avant de regarder les limites de notre étude, puis nous intégrerons ces limites à notre interprétation générale.

Interprétation des données physiologiques

En accord avec nos hypothèses, nos résultats ont mis en évidence une corrélation significative entre l'ocytocine centrale et périphérique. A notre connaissance, il s'agit de la première étude chez l'homme à mettre en évidence une telle corrélation. De plus nous sommes la première étude à réaliser un dosage de l'ocytocine dans le LCR directement au niveau du cerveau. En effet la plupart des études ayant étudié la concentration d'ocytocine dans le LCR ont été réalisées par ponction lombaire. Mais il est important de préciser que nous avons obtenu ces taux d'ocytocine sous des conditions de stress importantes (non basales). Cependant, cela montre que sous certaines conditions de stress, les concentrations centrale et périphérique d'ocytocine peuvent être corrélées. Un résultat similaire avait déjà été obtenu chez le rat (Wotjak et al. 1998), et nous sommes les premiers à le mettre en évidence chez l'homme.

Nous ne sommes pourtant pas les premiers à avoir investigué cette corrélation, une récente étude (Kagerbauer et al. 2013b) s'y est employée. En comparant les concentrations d'ocytocine plasmatique et dans le LCR obtenu par ponction lombaire sur des patients éveillés (avant une opération chirurgicale), les auteurs n'ont pas trouvé de corrélation entre l'ocytocine centrale et périphérique (ni sur la vasopressine).

Deux hypothèses peuvent expliquer cette différence, la première est que le stress lié à la ponction lombaire est différent du stress chirurgical de notre protocole, par exemple, on peut estimer que lors d'une ponction lombaire, le pic de stress a lieu juste avant la piqûre tandis que nos patients subissaient un stress chirurgical continu depuis plusieurs dizaines de minutes (le prélèvement étant réalisé au moins 30 minutes après ouverture de la peau). Étant donné que les libérations axonales et somato-dendritiques n'ont pas lieu à la même échelle temporelle (un axone dépend de PA rapides et précis alors que la diffusion somato dendritique dépend de concentrations ambiantes de diverses molécules), il faut envisager la possibilité que lors d'une ponction lombaire, les mécanismes de libération par axone et par diffusion somato-dendritique ne soient pas encore activés au même niveau. À l'inverse, dans notre expérience, le stress serait présent depuis suffisamment longtemps pour que les deux mécanismes de libération soient en marche.

La deuxième hypothèse pour expliquer la différence entre leurs résultats et les nôtres est que l'ocytocine au niveau des lombaires ne refléterait pas exactement l'activité de l'ocytocine centrale. Une récente revue sur le sujet (Veening, De Jong, and Barendregt 2010b) indiquait que l'ocytocine voyagerait dans le LCR depuis les ventricules vers la cavité subarachnoïdienne ou elle est absorbée par les sinus veineux, et seule une petite partie du LCR bifurquerait dans la moelle épinière (où la vitesse de déplacement du LCR est faible). Ainsi l'ocytocine arrivant au niveau des vertèbres lombaires pourrait n'être qu'un ersatz de l'ocytocine centrale. Nos données sont à ce point de vue particulièrement intéressantes, car nous avons prélevé le LCR proche de son lieu de sécrétion.

Nous pouvons déduire de ces deux arguments que le lieu de prélèvement du LCR pourrait influencer la concentration d'ocytocine, et qu'il semble bien que sous certaines conditions (stress chirurgical), les concentrations d'ocytocine centrale (LCR) et périphérique (plasma) soient corrélées. Cela contraste avec les résultats précédents, obtenus par ponction lombaire, où le lieu de prélèvement et les conditions sont différents des nôtres.

Nous avons observé une corrélation entre l'ocytocine et la vasopressine au niveau du LCR. Il avait déjà été montré que chez le rat, suite à un stress, ces deux neuropeptides co-augmentent dans le noyau para-ventriculaire (PVN) de l'hypothalamus (Wotjak et al. 1998), mais que seule l'ocytocine périphérique augmentait suite au stress. Nos résultats confirment ce phénomène chez l'homme. On peut expliquer cette corrélation centrale d'ocytocine et de vasopressine par l'interaction de ces hormones avec l'axe HPA (hypothalamo-pituitaire-adrénal). On sait par exemple que l'ocytocine interagit avec la corticolibérine (CRH) et avec le noyau du lit de la strie terminale (Dabrowska et al. 2011). La vasopressine est quant à elle également libérée en cas de stress et interagit également avec l'axe HPA (Caldwell et al. 2008).

En revanche, comme Wotjak chez le rat, nous n'avons pas trouvé de lien entre la vasopressine dans le LCR et dans le plasma. Cela peut être dû à l'utilisation de médicament influant sur la tension artérielle (e.g, éphédrine). L'absence de données à l'état basal ne nous permet pas de faire la conclusion qu'il n'y a pas d'augmentation de la vasopressine plasmatique.

En mesurant le cortisol, nous souhaitions à la fois contrôler que cette interaction entre neuropeptides et CRH (le cortisol dépend du CRH) n'expliquait pas la relation entre l'ocytocine centrale et périphérique, mais également explorer le lien entre cortisol, vasopressine et ocytocine pendant un stress chirurgical, car l'on sait que l'ocytocine plasmatique et le cortisol augmentent durant cette situation (A. Aggo, Mato, and Fyneface-Ogan 2012; Nussey et al. 1988). Nous n'avons malheureusement pas trouvé de lien, que ce soit au niveau du LCR ou du plasma. Des prélèvements de sang à l'état basal auraient été nécessaires pour voir les éventuelles co-variations de ces molécules.

Interprétation des données comportementales

La deuxième partie de l'étude portait sur le lien entre ocytocine et extraversion (mesurée par le NEO PI-R). Tout d'abord, nous avons confirmé le lien entre l'ocytocine plasmatique et l'extraversion

précédemment mis en évidence (Andari et al. 2012b). Cela renforce la validité et la cohérence de nos mesures.

Mais le point important et nouveau est que nous avons trouvé une corrélation positive entre l'ocytocine contenue dans le LCR et l'extraversion.

Il est intéressant de remarquer que si nos prélèvements ont été effectués en condition de stress chirurgical, les résultats d'Andari avaient été obtenus en prélevant des échantillons sanguin au repos, et donc sans stress.

On peut penser que les personnes extraverties possèdent une concentration d'ocytocine de base élevée, et donc qu'en situation de stress, leurs concentrations d'ocytocine restent supérieures à celles des personnes moins extraverties. Une question qui se pose est alors de savoir si les individus extravertis ont plus d'ocytocine que d'autres sujets en conditions de stress parce que leurs niveaux basaux sont plus élevés, ou parce qu'ils sécrètent plus d'ocytocine en situation de stress que les autres (ou les deux). Autrement dit, les personnes extraverties libèrent elles plus d'ocytocine face au stress par rapport à la population normale? Des prélèvements sanguins préopératoires nous auraient été très utiles pour étudier ces variations d'ocytocine face au stress.

Quelle que soit la réponse à cette question, nos résultats sont cohérents. L'ocytocine a un effet anxiolytique, il est donc normal que les personnes ayant de fortes concentrations d'ocytocine en conditions de stress soient plus extraverties. L'ocytocine leur permettrait d'être moins anxieux dans de telles situations.

Limites de l'étude

Pathologies des sujets

Les sujets recrutés souffraient de diverses affections pouvant affecter le fonctionnement normal du cerveau, ou au moins des fonctions cérébrales supportées par les zones touchées. Cependant, la moitié de nos patients (8 sur 16) ne possédaient pas de tumeurs cérébrales mais plutôt des problèmes découlement du LCR ou d'hydrocéphalie sans hypertension intracrânienne. Ainsi le cerveau de ces patients n'est pas directement touché. Sur les 8 patients étant atteint de tumeurs, 5 possédaient une tumeur dans le néocortex, un dans un ventricule, un au niveau du nerf vestibulo-cochléaire et un seul

avait son hypothalamus touché (craniopharyngiome), mais un séjour au service d'endocrinologie de l'hôpital Neurologique n'a rien révélé d'anormal. Il n'est pas rare de voir de très grosses tumeurs ne pas affecter fortement les capacités mentales d'une personne, c'est plutôt le type de la tumeur qui détermine son impact. Enfin, l'hypothalamus est une structure vitale profonde, et même les patients ayant une ou des fonctions cognitives de haut niveau (e.g, capacité d'abstraction) n'ont pas montrés de différences avec les autres d'un point de vue physiologique ou comportemental. Cela s'observe en constatant que l'Extraversion de nos sujets, mesurée par le NEO PI-R, était très similaires à un échantillon représentatif de la population française, tandis que l'Ouverture (qui est un domaine dont les questions sont beaucoup plus abstraites et théoriques) est le seul domaine où nos patients sont significativement différents de l'échantillon représentatif. On peut considérer que l'hypothalamus et ses fonctions sont des structures très résistantes et peu dé-réglables du fait de leur importance vitale.

Effets de l'anesthésie générale

Nous savons que l'ocytocine est impliquée dans l'analgésie (Martínez-Lorenzana et al. 2008), en anesthésiant nos patients nous contrôlons le facteur de la douleur ce qui démarque d'autant plus notre protocole par rapport aux ponctions lombaires. En parallèle, les auteurs de cet article (Martínez-Lorenzana et al. 2008) montrent qu'une anesthésie générale ne semble pas avoir d'effet sur la concentration d'ocytocine dans le LCR. Ainsi bien que nous n'utilisons pas les mêmes produits anesthésiants, nous en sommes arrivés à la même conclusion car nous n'avons pas observé de différences selon les différents produits utilisés. A noter que nous ne pouvons pas contrôler le propofol (hypnotique) et le nimbeX (curare) puisque tous les patients s'en sont vu administrer. Il n'y a cependant pas de raisons pour que ces médicaments affectent les taux d'ocytocine.

Lieu et heure de prélèvement

Prélever des échantillons à la sortie d'une valve de dérivation de LCR (qui sont de petits tuyaux récupérant le LCR dans un ventricule et l'emmenant à l'extérieur du crâne) revient à prélever directement dans le ventricule. L'ocytocine est justement libérée dans le LCR au niveau du troisième ventricule, autrement dit, prélever à cet endroit nous permet d'être au plus proche du taux d'ocytocine

libéré dans le LCR. Les prélèvements effectués dans l'espace subarachnoïdien reflètent également bien ce taux, puisque la majeure partie du LCR se diffuse depuis le quatrième ventricule vers cet espace (Veening, De Jong, and Barendregt 2010b). De plus, pour l'ocytocine, nous n'avons relevé qu'une tendance à une différence entre les différents lieux de prélèvement, cet effet devrait être ignoré en raison du nombre de tests réalisés, et de sa faible significativité statistique. Le même effet est présent sur le cortisol, mais cela ne semble pas avoir créé de liens entre le cortisol et les autres hormones.

Nous n'avons pas trouvé de différence selon l'heure du prélèvement, ce qui est contraire à la littérature (Amico et al. 1983). Cela est probablement dû au fait que l'effet de la chirurgie écrase l'effet du rythme circadien.

Biais de la méthode ELISA

Nos résultats sont cohérents et statistiquement solides en plus de reproduire des résultats déjà observés (Andari 2012). Néanmoins, les concentrations plasmatiques d'ocytocine peuvent apparaître en contradiction avec d'autres études.

Nous avons obtenus des taux d'ocytocine dans le plasma très supérieurs aux taux obtenus dans le LCR. Ceci est en désaccord avec la littérature, puisqu'il y a typiquement plus d'ocytocine dans le LCR que dans le plasma. Après une revue de la littérature, ces résultats s'expliquent car nous n'avons pas fait de protocole d'extraction. En effet, dans plusieurs articles où ce protocole est également absent, les taux d'ocytocine plasmatique varient de 80pg/mL jusqu'à 3.57ng/mL (Gordon et al. 2010; Gouin et al. 2010; Rubin et al. 2010; Scantamburlo et al. 2007b; Skrundz et al. 2011; Zak, Kurzban, and Matzner 2005b). Dans les articles utilisant un protocole d'extraction, les taux d'ocytocine plasmatique sont en général de l'ordre de 5 pg/mL (pour une revue voir table 1 (Ebstein et al. 2012b)), et sont donc inférieurs aux concentrations d'ocytocine dans le LCR (qui sont entre 10 et 20 pg/mL avec ou sans protocole d'extraction).

Comment expliquer une telle différence ? Un récent article (A. Szeto et al. 2011) s'y est attelé, et montre que sans protocole d'extraction, le test ELISA ne mesure pas uniquement de l'ocytocine. En utilisant la chromatographie liquide à haute performance, les auteurs montrent que ce que mesure en

réalité le test ELISA pourrait être une enzyme qui dégrade l'ocytocine, et/ou des produits de dégradation de l'ocytocine, en plus de l'ocytocine elle-même.

En revanche, les taux d'ocytocine que nous avons obtenus dans le LCR (autour de 10pg/mL) sont tout à fait cohérents avec la littérature utilisant un protocole d'extraction. Cela provient peut être du fait que l'ocytocine est surtout dégradée dans le sang. En tout cas, il ne semble pas y avoir de produits faussant le test ELISA interférant avec la mesure de l'ocytocine dans le LCR. Le protocole d'extraction pourrait ne pas être nécessaire pour doser l'ocytocine dans le LCR.

Le fait que plusieurs articles aient montré une relation entre l'ocytocine plasmatique (mesurée sans extraction) et une variable comportementale nous donne une raison empirique de penser que nos données ne sont pas dues au hasard. En revanche, il faut atténuer notre interprétation, en prenant en compte que notre mesure de l'ocytocine plasmatique est constituée principalement de produit de dégradation de l'ocytocine. Il faut toutefois noter que nous reproduisons la corrélation entre ocytocine plasmatique et extraversion déjà trouvé par notre équipe (Andari et al. 2012b), or, ces précédents résultats avaient été obtenu en utilisant un protocole de filtration (équivalent à l'extraction). Il semblerait donc que nos mesures ne soient pas si différentes, puisque nous observons le même lien, bien que sans extraction. On peut estimer que nos mesures reflètent donc bien l'activité ocytocinergique.

Passation du NEO PI-R

Nos sujets ont rempli ce questionnaire avant ou après l'opération. Nous avons décidé cela car faire passer ce test à l'hôpital est un biais que nous ne pouvions contrôler. Au stade préopératoire le patient est dans un état de stress relativement élevé, ce qui influe ses réponses, tandis qu'au stade postopératoire, il existe un risque pour que la chirurgie ait altérée sa personnalité en modifiant physiquement son cerveau (dans le cas de tumeurs). Dans l'idéal il aurait fallu faire passer le test plusieurs semaines avant l'opération, mais cela nous était impossible pour des questions d'organisation. De plus, les sujets sont recrutés une fois qu'ils ont appris qu'ils allaient subir une lourde intervention chirurgicale, ce qui est encore une fois un biais au NEO PI-R.

Nous avons toutefois vérifié que nos patients n'étaient pas différents de l'échantillon représentatif de la population française (excepté l'Ouverture, qui est donc un domaine que nous ne pouvons pas

interpréter). Par ailleurs, le fait de passer le NEO PI-R avant ou après l'opération ne semble pas avoir d'effet. Nous avons également étudié cela à travers les réponses au PANAS (qui donne une idée de l'état émotionnel), ce qui ne nous a pas donné de raisons pour invalider l'homogénéité des réponses au NEO PI-R.

Discussion générale

Au vu de ces limites, la conclusion principale de cette étude est que la concentration d'ocytocine dans le LCR est corrélée, en condition de stress chirurgical, à la concentration d'ocytocine et de ses produits de dégradation dans le plasma. De plus, les concentrations d'ocytocine plasmatique (et ses produits de dégradation) et dans le LCR sont corrélées avec le degré d'extraversion des sujets. Ce résultat renforce la solidité de nos données car Andari a montré que cette corrélation existait aussi sans les produits de dégradation (ils avaient filtré leurs échantillons).

Le deuxième point important est que dans le LCR (où nos mesures ne semblent pas biaisées) l'ocytocine et la vasopressine sont corrélées. Enfin, la vasopressine dans le plasma n'est corrélée à aucune de ces variables, mais la vasopressine plasmatique a pu être fortement modifiée par l'utilisation de produits anesthésiants du fait de son rôle de vasoconstricteur.

Nous avons donc produit chez l'homme des résultats similaires à ceux obtenus chez l'animal (Wotjak et al. 1998). De plus, nos résultats remettent en cause la conclusion des études montrant qu'il n'y avait pas de corrélation entre l'ocytocine centrale et périphérique chez l'homme.

Le plus récent exemple est un article ayant spécifiquement ce but (Kagerbauer et al. 2013b), où en utilisant une méthode de dosage différente (protocole d'extraction puis dosage radio-immunologique), les auteurs concluent que le plasma ne serait pas un bio-marqueur adapté de l'ocytocine centrale. Leurs prélèvements ne sont cependant pas effectués en conditions basales (ponctions lombaires), en plus d'être effectués loin du lieu de sécrétion. Nous montrons ici que le fait de ne pas mesurer l'ocytocine en conditions basales a une influence directe sur la présence ou non de lien entre ces variables. Nos

données indiquent que nous ne connaissons pas le lien entre l'ocytocine centrale et périphérique en conditions basales, mais qu'en conditions de stress, il peut y avoir comme ne pas y avoir de corrélation. D'un point de vue biologique, il a récemment été confirmé que les neurones magnocellulaires, qui projettent des axones vers la neurohypophyse, projettent également des collatéraux vers l'amygdale (Knobloch et al. 2012b). C'est-à-dire que les axones provenant des neurones magnocellulaires se scindent en deux, une branche partant vers la neurohypophyse, l'autre branche se dirigeant vers l'amygdale (ou d'autres structures). Ainsi, lorsque l'on active ces neurones, et donc libère de l'ocytocine dans l'amygdale (noyau central), cela provoque une inhibition du comportement de peur. On peut en conclure que lorsque qu'un PA (potentiel d'action) active l'axone d'un neurone magnocellulaire à ocytocine, celui-ci libère de l'ocytocine dans le sang et dans l'amygdale simultanément, grâce à ses collatéraux. Cela correspond à la fonction de neurotransmetteur de l'ocytocine, mais il faut également considérer son action de neuromodulateur qui s'inscrit dans une échelle temporelle plus longue.

En résumé, l'ocytocine périphérique ne représenterait pas directement le phénomène de diffusion centrale mais plutôt l'action de l'ocytocine en tant que neurotransmetteur. Ainsi l'ocytocine périphérique pourrait être corrélée à la concentration d'ocytocine dans l'amygdale. Il faut ajouter que l'ocytocine présente dans l'amygdale est évacuée dans le LCR. Le lien causal de notre corrélation pourrait donc venir de deux choses : premièrement, la concentration d'ocytocine dans le LCR est due au phénomène de diffusion somato-dendritique, ce phénomène est sensible au stress, par conséquent, les concentrations d'ocytocine centrales et périphériques co-augmentent face au stress chirurgical jusqu'à devenir corrélées (car elles sont toutes deux sensibles au stress). Deuxièmement, l'évacuation de l'ocytocine libérée par les axones des neurones magnocellulaires dans l'amygdale influence le taux d'ocytocine dans le LCR, et comme l'ocytocine plasmatique pourrait être corrélée avec l'ocytocine libérée dans l'amygdale, elle sera donc corrélée avec le LCR (qui sert d'«évier» pour les peptides relâchés dans l'espace extracellulaire (Ludwig and Leng 2006)).

Dans tous les cas, cette vision du lien entre ocytocine périphérique et amygdale est cohérente avec la littérature, car il a récemment été mis en évidence que l'ocytocine plasmatique était corrélée avec le volume de l'amygdale (Andari et al. 2012b).

Même si cette hypothèse s'avère correcte, elle pose plusieurs questions fondamentales sur le système ocytocinergique. Par exemple, quel serait l'avantage de libérer simultanément de l'ocytocine dans l'amygdale et dans le sang, et plus généralement, en dehors des fonctions de l'ocytocine périphérique liées à la reproduction (accouchement, lactation), à quoi sert-elle une fois relâchée dans le sang suite à un stimulus stressant ? Plusieurs pistes de réponses sont actuellement étudiées, comme par exemple l'effet de l'ocytocine sur le rythme cardiaque, ou encore sur le système digestif. Il semblerait qu'elle puisse jouer un rôle dans la coordination de la réponse comportementale et corporelle suite à divers stimuli.

Perspectives

Nos résultats apportent déjà une première avancée par rapport à la validité de mesurer l'ocytocine dans le plasma. Mais comme nous l'avons vu, ce n'est pas le seul débat sur ce sujet, puisque même la méthode de mesure généralement utilisée par les scientifiques s'intéressant à l'ocytocine plasmatique (i.e., les kits ELISA vendu dans le commerce et utilisés sans appliquer de protocole d'extraction sur les échantillons testés) est critiquée (McCullough, Churchland, and Mendez 2013).

Il serait donc très intéressant d'analyser nos échantillons en appliquant un protocole d'extraction à nos prélèvements.

Une telle méthode permet d'éliminer les protéines selon leur masse moléculaire. Par exemple la méthode de filtration développée par Péqueux (Péqueux et al. 2001) et utilisée par Andari (Andari et al. 2012b), ôte toute molécule dont la masse est supérieure à 3000 Dalton. Ce procédé semble ainsi éliminer des échantillons toutes les molécules (ou au moins la grande majorité) qui ne sont pas de l'ocytocine mais qui réagissent quand même avec l'anticorps du test ELISA.

Nous faisons l'hypothèse qu'en appliquant un protocole d'extraction sur nos échantillons, nous trouverions encore la corrélation entre ocytocine centrale et périphérique. Cela confirmerait nos présents résultats en les répliquant avec une méthodologie non sujette aux récentes critiques (McCullough, Churchland, and Mendez 2013).

La deuxième question importante de cette expérience serait de savoir s'il y a une corrélation entre les mesures d'ocytocine avec et sans extraction. Vu que, sans extraction, nous reproduisons des résultats obtenus avec extraction (lien entre ocytocine plasmatique et extraversion), nous faisons l'hypothèse que

les mesures réalisées sans extraction seront corrélées avec les mesures réalisées avec extraction. Autrement dit, la concentration d'ocytocine serait corrélée à la concentration d'ocytocine plus ses produits/enzymes de dégradation (ou tout ce à quoi le test ELISA réagit).

Ainsi, en combinant l'ensemble de ces nouveaux résultats avec ceux que le présent travail a mis en évidence, nous pourrions statuer sur la pertinence des mesures d'ocytocine plasmatique réalisées sans protocole d'extraction, et répondre aux critiques récentes envers la littérature analysant des prélèvements sanguin avec des kits ELISA issus du commerces. L'intérêt final du présent travail est de vérifier que le nombre grandissant d'articles sur l'ocytocine chez l'homme utilisent des mesures adaptées de l'ocytocine.

ANNEXE 1 : LISTE DES PRODUITS ANESTHESIANTS UTILISES DURANT L'INTERVENTION NEUROCHIRURGICALE

Annexe 1. Liste des produits anesthésiants administrés aux patients. Pour chaque patient, un 1 indique que le produit a été utilisé durant l'opération, un 0 indique que le médicament n'a pas été utilisé. T1 à T16 : représente les différents patients inclus dans l'étude

Produits :	Remifentanil	Sufentanil	Propofol	nimbex	céfuroxime	vancomycine	Ephédrine	Ringer	Voluven	Atropine	Midazolam
T1	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0
T2	0	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0
T3	1	0	1	1	0	1	0	1	0	1	0
T4	0	1	1	1	1	0	1	0	1	0	0
T5	0	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0
T6	0	1	1	1	1	0	1	1	0	0	0
T7	0	1	1	1	0	1	0	1	0	0	1
T8	0	1	1	1	1	0	1	0	1	0	0
T9	1	0	1	1	1	0	0	0	1	0	0
T10	1	0	1	1	1	0	1	1	0	0	0
T11	0	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0
T12	0	1	1	1	1	0	0	0	1	0	1
T13	0	1	1	1	1	0	1	1	0	0	0
T14	0	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0
T15	0	1	1	1	1	0	1	0	1	0	1
T16	0	1	1	1	0	1	0	1	0	0	1

RECAPITULATIF DES PRINCIPAUX RESULTATS DE L'ETUDE

CHAPITRE 1 : L'OCYTOCINE SERAIT-ELLE DIRECTEMENT LIEE A LA NEUROPHYSIOLOGIE DE NOTRE PERSONNALITE SOCIALE ?

Cette première étude a mis en évidence l'existence d'une corrélation entre la concentration plasmatique de l'ocytocine et le niveau d'Extraversion des individus. La concentration d'ocytocine périphérique est aussi négativement corrélée au volume de l'amygdale et de l'hippocampe. Nous retrouvons la même corrélation entre la personnalité sociale et le volume de ces régions. Cette première étude met en évidence le lien étroit entre l'ocytocine, la personnalité sociale et les structures cérébrales impliquées dans notre comportement. L'ocytocine serait donc à la base de la neurophysiologie de notre sociabilité.

CHAPITRE 2 : L'OCYTOCINE PEUT-ELLE INFLUENCER LA PERCEPTION SOCIALE QUE NOUS AVONS DE NOUS-MEME ?

Nous démontrons ici qu'en plus d'influencer notre comportement social, l'ocytocine modifie la vision de la personnalité sociale que nous avons de nous-même. Ainsi, en favorisant notre sentiment de confiance par rapport aux autres, l'ocytocine nous conditionne afin d'avoir un comportement social optimum. De plus, l'effet de l'hormone est corrélé au niveau des concentrations plasmatiques des sujets supposant une action ciblée du neurotransmetteur.

CHAPITRE 3: EXISTE-T-IL UNE CORRELATION ENTRE OCYTOCINE PERIPHERIQUE ET CENTRALE ? CETTE DERNIERE SERAIT-ELLE AUSSI DIRECTEMENT LIEE A NOTRE PERSONNALITE SOCIALE ?

Les résultats de cette étude ont mis en évidence l'existence d'une corrélation positive entre les concentrations d'ocytocine plasmatique et centrale. De plus, les concentrations d'ocytocine centrale et périphérique sont toutes deux positivement corrélées au niveau de la personnalité sociale des individus. Ces résultats démontrent que les concentrations d'ocytocine périphériques reflètent l'activité ocytocinergique centrale et confirme que ce serait un bon indicateur du niveau de notre personnalité sociale

CONCLUSION : Cette partie de notre travail a démontré la place importante de l'ocytocine dans la physiologie du comportement social. Ainsi l'ocytocine périphérique semble être un bon indicateur de notre niveau de sociabilité et pourrait être définie comme biomarqueur du comportement social.

DEUXIEME PARTIE :

**DE L'OCYTOCINE AU COMPORTEMENT SOCIAL,
MISE EN JEU DE LA SEROTONINE**

IMPLICATION DANS LA PATHOLOGIE DE L'AUTISME

RAPPEL DES QUESTIONS POSEES DANS CETTE DEUXIEME PARTIE

CHAPITRE 1 : L'OCYTOCINE EST-ELLE CAPABLE D'INFLUENCER L'ACTIVITE CENTRALE DU SYSTEME SEROTONINERGIQUE ?

Questions posées : L'ocytocine est-elle capable d'interagir avec la sérotonine et de moduler son activité centrale ?

Méthode employée : Evaluation de l'effet de l'ocytocine sur l'activité sérotoninergique dans une étude d'imagerie en Tomographie par Emission de Positron (TEP) réalisée en double aveugle ciblant le récepteur 5-HT_{1A} grâce au radiotracer [18-F]MPPF.

Hypothèse : Nous supposons que l'administration d'ocytocine va modifier le potentiel de liaison (BP) du MPPF attestant d'une modification de l'activité sérotoninergique. Etant donné la diminution du BP du 5-HT_{1A} dans de nombreuses pathologies où l'ocytocine est présentée comme traitement potentiel, nous attendons une augmentation du MPPF BP.

CHAPITRE 2 : LA RELATION ENTRE OCYTOCINE ET SEROTONINE EST-ELLE IMPLIQUEE DANS LA PATHOLOGIE DE L'AUTISME ?

Questions posées : Le système des récepteurs 5-HT_{1A} est-il altéré chez les patients autistes ? L'ocytocine est-elle capable de restaurer ce déficit ?

Méthode employée : Evaluation de l'effet de l'ocytocine sur l'activité sérotoninergique dans une étude d'imagerie en Tomographie par Emission de Positron (TEP) réalisée double aveugle ciblant le récepteur 5-HT_{1A} grâce au radiotracer [18-F]MPPF chez le sujet sain et le patient autiste

Hypothèse : Nous supposons que les patients Asperger seront caractérisés par un déficit du BP des récepteurs 5-HT_{1A} et que l'administration d'ocytocine pourra pallier à cette différence entre sujets sains et patients.

BUT DE L'ETUDE : Cette partie de notre travail vise à mettre en évidence l'influence de l'ocytocine sur le système sérotoninergique et l'importance de cette interaction dans notre comportement social et la pathologie de l'autisme.

A. CHAPITRE 1 : L'OCYTOCINE EST-ELLE CAPABLE D'INFLUENCER L'ACTIVITE SEROTONINERGIQUE CENTRALE ?

Article soumis:

Switching Brain Serotonin After Oxytocin

Raphaëlle Mottolese, Jérôme Redoute, Nicolas Costes, Didier Lebars, Angela Sirigu

Présentation et Résumé de l'étude

L'action centrale de l'ocytocine est encore mal connue et ce notamment à cause de difficultés méthodologiques limitant l'acquisition de données sur son fonctionnement central chez l'homme. Aussi, si l'OT s'avère avoir un rôle primordial dans la physiologie de notre comportement social, nous savons encore très peu de choses quant à son interaction avec les autres neurotransmetteurs impliqués dans notre sociabilité. Etant donné que l'OT aurait un potentiel thérapeutique dans le cadre de l'autisme mais aussi la dépression et l'anxiété sociale, pathologies toutes trois caractérisées par un déficit du système sérotoninergique et qu'il est déjà clairement établi que la sérotonine stimule l'ocytocine ; nous supposons que l'OT pourrait stimuler l'activité centrale de la sérotonine.

Nous avons donc choisi d'étudier l'action centrale de l'OT à travers l'effet de son administration sur l'activité centrale de la sérotonine (5-HT). Par conséquent, nous avons dans une étude en double aveugle chez vingt sujets sains, étudié l'interaction entre l'OT et la 5-HT par Tomographie par Emission de Positron (TEP) en utilisant un radioligand ([18-F]MPPF) spécifique des récepteurs 5-HT_{1A} de la 5-HT. En effet, ces récepteurs sont localisés majoritairement dans des régions clés du comportement social: le raphé, le complexe amygdale/hippocampe, l'insula, le cortex cingulaire antérieur ainsi que le cortex orbitofrontal, régions également connues pour être cibles de l'action de l'ocytocine.

L'administration d'ocytocine entraîne une augmentation du potentiel de liaison (BP) du MPPF, traduisant une modification de l'activité du système sérotoninergique au niveau du raphé, de l'amygdale/hippocampe droit, de l'insula droite et du cortex orbitofrontal, régions cérébrales essentielles à notre sociabilité. D'après, les modèles classiques existant, cette augmentation du MPPF correspondrait à une diminution de la sérotonine endogène. Nous faisons l'hypothèse que grâce à son action directement au niveau du raphé, chef d'orchestre de l'activité sérotoninergique, l'ocytocine pourrait inhiber l'activité des neurones 5-HT conduisant à une diminution de la libération de sérotonine dans les zones de projections.

Nos résultats mettent en évidence pour la première fois chez l'homme la capacité de l'OT à moduler l'activité de la sérotonine et suggèrent que l'action comportementale de l'OT pourrait passer en partie par une modulation du système sérotoninergique. Etant donné l'implication de ces deux neurotransmetteurs tant au niveau du comportement social que des pathologies sociales qui en découlent, l'interaction entre OT et 5-HT semble donc être primordiale et devraient être pris en compte dans les futures recherches visant à développer des traitements efficaces.

Switching brain serotonin after oxytocin

Raphaëlle Mottolese, Jerome Redoute, Nicolas Costes, Didier Lebars, Angela Sirigu

1. Abstract:

Serotonin (5HT) and oxytocin (OXT) are two neuromodulators involved in human affect and sociality, and in disorders like depression and autism. We asked whether these chemical messengers interact in the regulation of emotion-based behavior by administering OXT or placebo to twenty healthy subjects and mapping cerebral 5HT using [18F]-MPPF, an antagonist of 5HT_{1A} receptors. OXT increased MPPF BP_{ND} in the dorsal raphe, the core area of 5HT synthesis, in the amygdala/hippocampal complex, insula and orbitofrontal cortex. Importantly, the amygdala appears central in the regulation of 5-HT by OXT: MPPF BP changes in the DRN correlated with changes in the right amygdala, which were in turn correlated with those in hippocampus, insula and orbitofrontal cortex, a circuit implicated in the control of stress, anxiety and social behavior.

One Sentence Summary: Oxytocin modulates central serotonin system activity

2. Report

Brain chemistry strongly influences our behaviour. Among neuromodulators, serotonin (5-HT,) and oxytocin (OXT) are important for the regulation of human affects and social behaviour (Bartz et al. 2011; Lucki 1998). Both systems have been implicated in the control of stress, anxiety and social cooperation (Scantamburlo et al. 2007a). Moreover, their dysfunction is associated with major psychiatric disorders as depression and autism (Modahl et al. 1998; Zafeiriou, Ververi, and Vargiami 2009). Recent animal studies demonstrated that specific anatomical links exist between these two molecules. Serotonergic fibers originating from the dorsal and medial raphe nuclei of the brainstem, project towards magnocellular neurons in the paraventricular (PVN) and supraoptic (SON) nuclei of the hypothalamus where OXT is

released (Sawchenko et al. 1983). In this region serotonin fibers (5-HTT transporter) overlap and follow the distribution of OXT cells (Emiliano et al. 2007). Importantly, in the raphe nuclei, the center of 5-HT synthesis, serotonergic neurons display oxytocin receptors and OXT modulates the release of serotonin (Yoshida et al. 2009). Recent results have also shown that administration of OXT during the postnatal period increases the length of serotonergic axons in the hypothalamus and in the amygdala (Eaton et al. 2012). In return, serotonin is able to modulate OT release while interacting with different 5-HT receptors in the hypothalamus (Jørgensen et al. 2003; Ho, Chow, and Yung 2007). Also, the administration of fenfluramine, a serotonergic agonist, to healthy subjects increases plasma OT level (R. Lee et al. 2003). These findings indicate that OXT and 5-HT share anatomical substrates which may constitute a functional interface in the regulation of emotion-based behavior. Behaviourally, both OXT and 5-HT modulate reactions to social contexts and threatening stimuli in humans and animals (5-HT: (Cools, Roberts, and Robbins 2008); (Crockett et al. 2008); OXT: (Ring et al. 2006) (Kerstin Uvnäs-Moberg 1998)). For instance, oversensitivity to threat-related contexts, a mark of mood and anxiety disorders, is mediated by 5-HT in the amygdala, a region important for fear and fear conditioning response (M. Davis 1992). OXT suppresses amygdala response to emotionally threatening stimuli such as faces or scenes and has anxiolytic effects (Ring et al. 2006) (Kerstin Uvnäs-Moberg 1998). Both 5-HT and OXT systems are involved in the avoidance/approach motivational system: 5HT has been implicated in the regulation of defensive, aversive, and harm avoidance behaviors (Cools, Roberts, and Robbins 2008), while OXT is known for its role in affiliative behavior and proximity maintenance (Feldman 2012). Although no data is available in humans, this raises the question whether 5-HT and OXT work strictly independently on approach and avoidance systems or whether they show mutual interactions for regulating the balance between these two opposite behavioral tendencies.

In this study we sought to identify, in humans, the brain sites where OXT and 5-HT interact and to determine the nature of the influence, i.e. facilitatory or inhibitory, of OXT on 5HT activity at these interaction sites.

In a randomized double-blind investigation we administered to twenty healthy subjects either placebo or intranasal OXT and mapped the 5-HT_{1A} system using [18F]MPPF, a selective antagonist of 5-HT_{1A} auto- and hetero-receptors. With this method we measured through PET-imaging OXT-induced variation of MPPF non-displaceable binding potential (MPPF BP_{ND}) in regions known to be rich in 5-HT_{1A}. In line with current occupancy models, increased MPPF BP means more availability for the antagonist to fix at the receptor level and accordingly diminished 5-HT central concentration (Zimmer et al. 2003). The 5-HT_{1A} system located in raphe nuclei and in projection areas, amygdala, hippocampus, parahippocampus, insula, cingular cortex and prefrontal cortex (Costes et al. 2005; Varnäs, Halldin, and Hall 2004), contains neurons which carry inhibitory signals to regulate synaptic release of 5-HT (Frey et al. 2008) (Hornung 2003). This system is of particular interest here since reduced expression of 5-HT_{1A} receptors has been linked to an “anxious” phenotype (Gross et al, Nature, 2002; Tsetsenis et al, Nature Neuroscience, 2006). Also 5-HT_{1A} receptors binding is decreased in patients suffering from depression (Drevets, Price, and Furey 2008) or social anxiety (Lanzenberger et al. 2007), two disorders where OXT is considered as having a potential therapeutic benefit (Bartz et al. 2011; Arletti and Bertolini 1987; K Uvnäs-Moberg et al. 1999). We therefore expected 5-HT_{1A} system to be a significant target for OXT action.

All subjects (N=20) underwent a first scan to evaluate the basal distribution of 5-HT_{1A} receptors (basal state condition). A second scan was performed one week later with subjects receiving either 24IU of intranasal oxytocin (OXT group, N=10) or placebo (placebo group, N=10) (*Supplementary Material*). Figure 1A shows the results obtained in the basal state (N=20). We found significant MPPF binding on 5-HT_{1A} receptors in the dorsalis raphe nucleus

(DRN) and bilaterally in amygdala and hippocampus, insula, antero/medial cingulate area and the orbitofrontal cortex (Figure 1A).

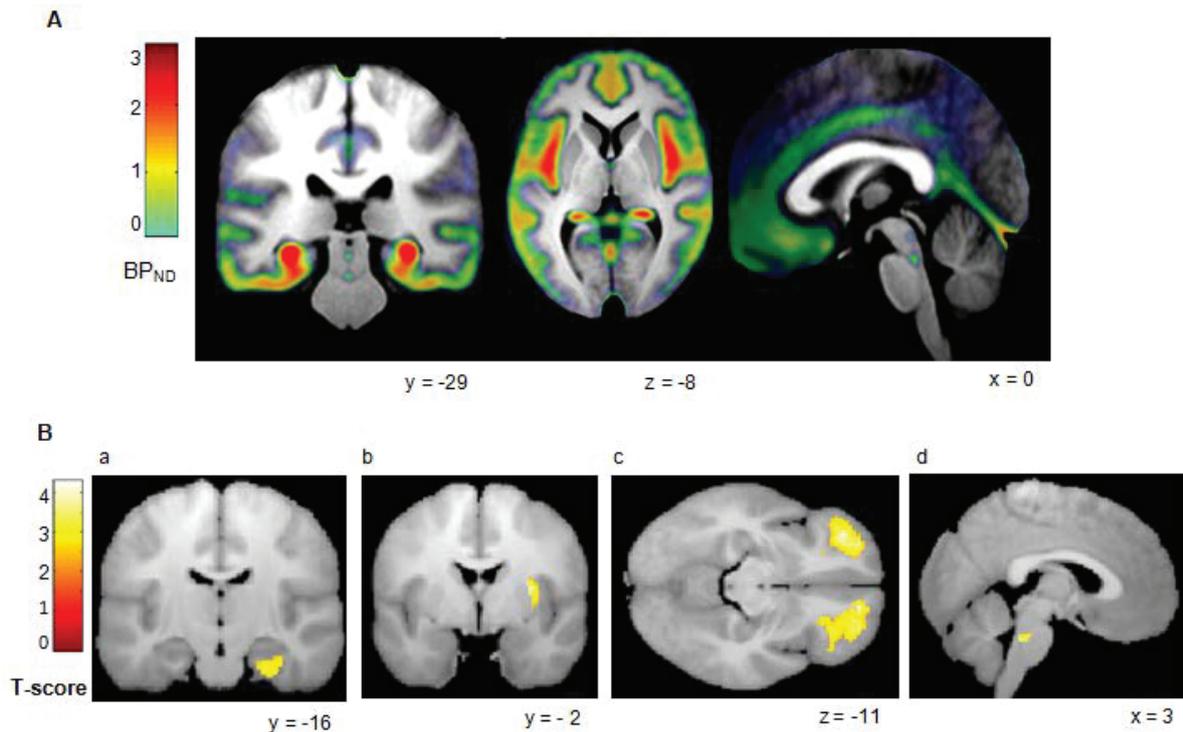


Fig. 1. MPPF binding on 5-HT_{1A} receptors in the basal state (top) and effect after oxytocin administration (bottom).

We assessed the effect of oxytocin (OXT) on the serotonin system activity by targeting the 5-HT_{1A} receptors (5-HT_{1A} R) in an oxytocin/placebo double blind investigation. Twenty subjects participated in the study. **A)** Brain mapping of 5-HT_{1A} R in the basal state (N=20). 5-HT_{1A} R are mainly localized in limbic areas (amygdala and hippocampus) ($y = -29$), the insula ($z = -8$), the dorsalis raphe nucleus, the orbitofrontal cortex and the anterior cingulate cortex ($x = 3$). The color scale ranges from the minimum to the maximum MPPF binding potential (BP_{ND}) in the image. We analyzed the effect of oxytocin or placebo within a mask including the brain regions found in the basal state using the HammersN30R83 maximum probability atlas. **B)** Statistical T-map showing the effect of oxytocin administration on MPPF BP_{ND} in the OXT condition as compared to the basal state (N=10). This SPM result (individual voxel threshold: $p < 0.01$; cluster size: $K \geq 122$) showed significantly increased ($p < 0.001$) in the right amygdala/hippocampus/parahippocampus complex (a, $y = -16$), the right anterior insula (b, $y = -2$), the right and left orbitofrontal cortex (c, $z = -11$), and the dorsalis raphe nucleus (d, $x = 3$). We found no significant effect in the placebo group (N=10). For complete statistical results, see Table 1. PET images are superimposed on the averaged of the individual MRI scans (N=20).

To examine if OXT induces variations of MPPF BP_{ND} on the 5-HT_{1A} network identified in the basal state, we entered our regions of interest (ROI) within a mask using a maximum probability atlas (Heckemann et al. 2010). No significant MPPF BP_{ND} variation was observed

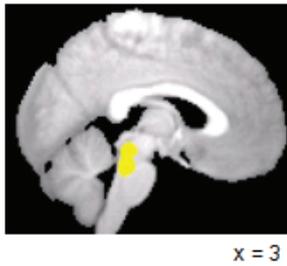
in the placebo group comparing to the basal state (*Supplementary Figure S1*). In contrast, in the group receiving OXT, MPPF BP_{ND} significantly increased in the DRN, the core area of 5HT synthesis. OXT also increased MPPF BP_{ND} in the right amygdala/hippocampal complex, the right insula and right and left orbitofrontal cortex ($p < 0.001$) (Figure 1.B, Table 1).

Table 1. MPPF BP_{ND} significant increases after OXT administration compared to the basal state. This table summarizes the statistical results corresponding to the SPM analysis evaluating the effect of oxytocin intake on MPPF BP_{ND}. Each cluster can be seen on figure 1.

Brain regions	Cluster size	<i>peak</i>		MNI coordinates		
		Z-score	p value	x	y	z
Dorsalis raphe nucleus	131	3.44	<0.001	3	-33	-32
Right amygdala/hippocampus/para-hippocampus complex	382	3.03	<0.001	24	-19	-27
Right insula	392	3.72	<0.001	32	2	10
Left orbito frontal cortex (OFC)	999	3.70	<0.001	-33	41	-14
Right orbito frontal cortex (OFC)	1562	3.85	<0.001	14	51	-15

To examine whether the magnitude of OXT effect in DRN correlated with the MPPF BP_{ND} in these latter regions, we entered the mean MPPF BP values for each subject in the OXT group, as a covariate using a linear regression model. Under OXT we found a strong correlation between MPPF BP_{ND} in the DRN (our seed region) and that in right amygdala ($p = 0.001$), suggesting a functional linkage between effects of OXT on 5-HT in the two regions (Figure 2). No significant correlation was found in the basal state or in the placebo group.

A Seed region: dorsalis raphe nucleus (DRN)



B Correlated region: right amygdala

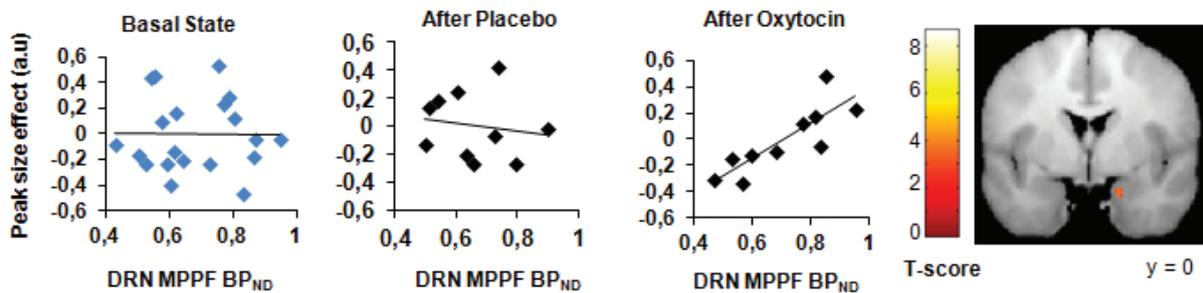


Fig .2. Correlation of the right amygdala with the dorsalis raphe nucleus (DRN) MPPF BP_{ND} .

For the OXT group (N=10), we looked for a relationship between the BP_{ND} in the DRN (Seed region) and the regions where OXT has a significant effect (see Fig 1). We choose the DRN as the seed region because of its central role on the serotonergic system. A) The DRN region was delineated by selecting connected voxels exceeding 80% of the maximum voxel in the brain stem, on the average PET BP_{ND} image at the basal state. The mean MPPF BP_{ND} value in DRN for each subject was covaried out with every voxels within the mask including brain regions responding to OXT administration. B. SPM result (voxel threshold $p < 0.01$; cluster size $K \geq 27$). We found a significant positive correlation after OXT administration, in the right amygdala (cluster size: $K=31$; peak coordinates: (18, -1, -24), peak level: $Z=2.54$, $p=0.002$, right plot and image). No significant correlation was found in the basal state (left plot), or in the placebo group (N=10).

In turn MPPF BP_{ND} changes in right amygdala correlated with those in the hippocampus formation, insula ($p < 0.001$) and orbitofrontal cortex ($p \leq 0.003$) (Figure 3, Table S2). Again, no significant correlation was found in the basal state or in the placebo group.

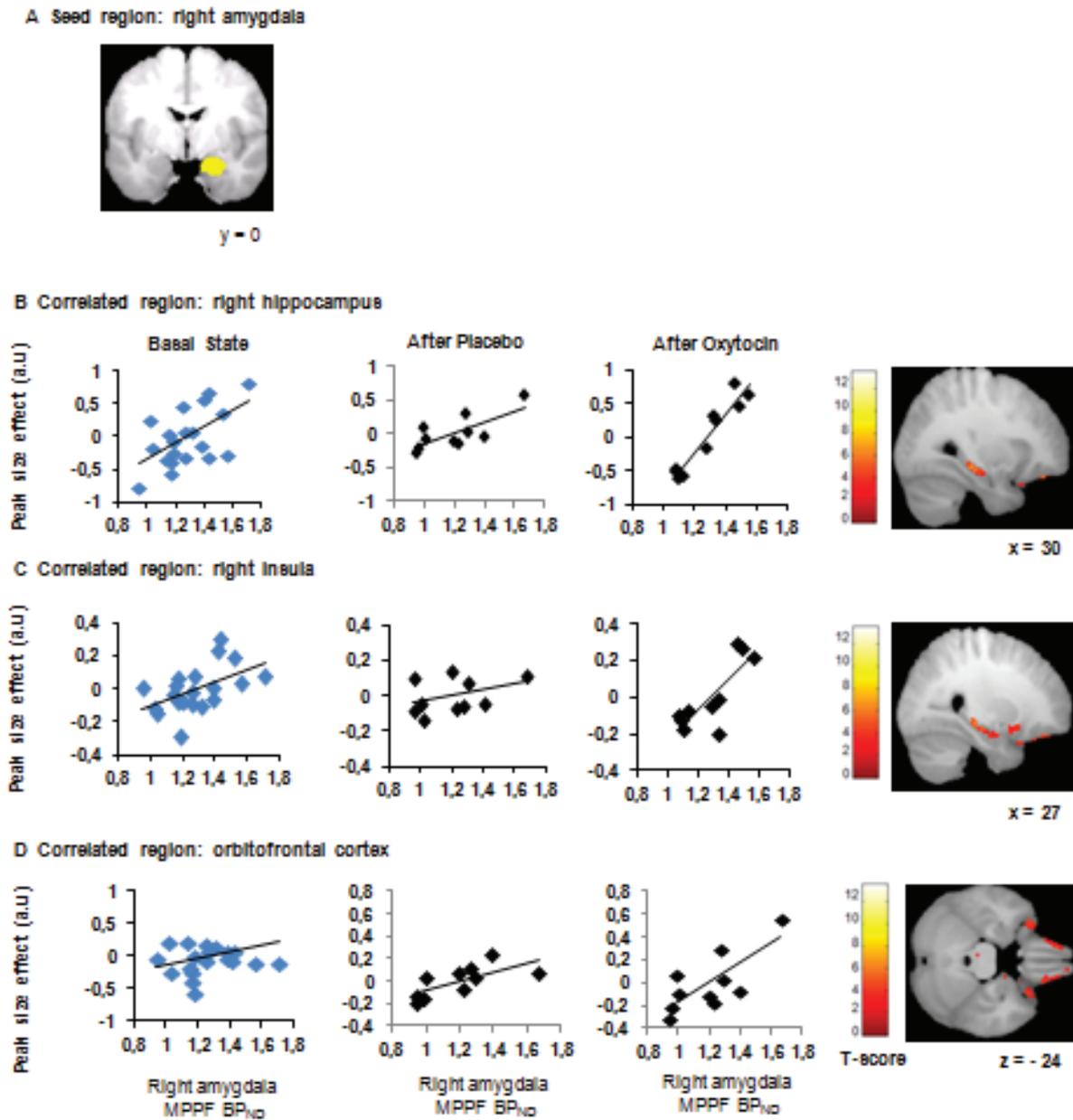


Fig. 3. Correlation of the right hippocampus, the right insula, and the bilateral orbitofrontal cortex with the right amygdala MPPF BP_{ND}

For the OXT group (N=10), we looked for a relationship between the BP_{ND} in the right amygdala (Seed region) and the regions where OXT has a significant effect (Fig 1). The right amygdala was chosen because of its relationship with the DRN in the OXT condition (Fig. 2). Amygdala was defined using the HammersN30R83 maximum probability atlas.

The mean MPPF BP_{ND} of the right amygdala for each subject was covaried out with every voxels within the mask including brain regions responding to OXT administration. SPM results (voxel threshold $p < 0.01$; cluster size ≥ 27). We found significant correlation (right plots and images), in the DRN (not shown), in the right hippocampus (B), in the right insula (C) and in the orbitofrontal cortex (D), right posterior, right medial, left posterior, left medial, plot showed corresponds to correlation in the left posterior orbitofrontal cortex. No significant correlation was found in the basal state (left plots), or in the placebo group (N=10).

These findings show that OXT powerfully modulates the serotonergic system. If the interaction between these neuromodulators was shown in the past by *in vitro* animal research, this is the first study to reveal similar effects in the human brain. The observation that OXT regulates 5-HT_{1A} network suggests that OXT interferes with 5-HT neurotransmission. In accordance with occupancy models, an increase of MPPF BP_{ND} means that more space is available for the antagonist to fixate at the 5-HT_{1A} receptor, and this in turn reflects depletion of 5-HT in the extracellular space (Aznavour et Zimmer 2007). We show that OXT exerts an action at the very root of the 5-HT system, as demonstrated by the increase of MPPF BP_{ND} in the DRN, the main locus of 5HT synthesis. In line with this, increased 5-HT concentration induced by the serotonin reuptake inhibitor fluoxetine reduces MPPF BP in the DRN (Sibon et al. 2008). Consequently the increase of MPPF BP_{ND} observed here could be interpreted as an inhibitory effect of OXT on 5-HT activity. Conversely, rats treated with a 5-HT agonist (5-methoxytryptamine) which causes hyperserotonemia exhibit a decrease of OXT in the paraventricular nucleus of the hypothalamus and a form of “autistic like” behavior (Whitaker-Azmitia 2005), suggesting the existence of mutual interactions between the 5-HT and OXT systems.

Different mechanism may be involved in the observed inhibitory effects of OXT on serotonin. One possible route is by direct interference with 5-HT neuronal activity in the raphe nuclei, leading to a reduction of 5-HT secretion in the extracellular space. However, a decrease of 5-HT concentration in raphe nuclei would result in lower stimulation of 5-HT_{1A} autoreceptors and a consequent relative increase of 5-HT concentration in projection areas (Fisher et al. 2006; Hasler et al. 2004), which is not the case in our study. Alternatively, an increase of 5-HT_{1A} autoreceptors density and/or affinity in raphe nuclei could explain and reinforce the increase of the MPPF BP in projection areas after OXT, leading to a serotonin decrease in these regions.

Thus, an increase of MPPF BP_{ND} could be a direct consequence of OXT's action on 5-HT_{1A} receptors, by increasing for instance their density and/or affinity. Given that serotonergic neurons in the raphe nuclei display OXT receptors (Yoshida et al. 2009), an interaction between the two neurotransmitters at receptors' level is possible. 5-HT_{1A} receptors can exist in high (G-protein coupled 5-HT_{1a} receptors) and low (free 5-HT_{1A} receptors) affinity state (Gozlan et al. 1995). We can speculate that OXT action by the way of its receptors activates a cell signaling pathway that will conduct to the coupling of 5-HT_{1A} free receptors to a G-protein. In other words, OXT might help the transition between the low and high affinity state of 5-HT_{1A} receptors, thus enhancing their signaling force.

Within 5-HT_{1A} projection areas, the right amygdala may play a strategic role in OXT modulation of the 5-HT pathway. Administration of OXT inhibits right amygdala activity during perception of stressful scenes (Kirsch et al. 2005) while high amygdala activity has been associated with increased anxiety (Roosendaal, Koolhaas, et Bohus 1997), which is also a hallmark of 5HT dysregulation (Parks et al. 1998). Thus, right amygdala seems to be a key site for the interaction between OXT and 5-HT and we can speculate that the well-known anxiolytic effect of OXT (Ring et al. 2006) is mediated by its modulation of the serotonin activity in the amygdala.

Importantly we found that OXT-induced changes in 5-HT_{1A} signaling in the right amygdala are independently correlated with changes in the DRN on the one hand, and in several limbic and cortical areas on the other hand. Firstly, amygdala and DRN seems to entertain a privileged relation. Compared to the basal state and to placebo, OXT significantly increased the functional coupling between the two regions. There are known dense projections from raphe nuclei to the amygdala (A R Hariri et Weinberger 2003). Recently, it has been shown that an increase of 5-HT_{1A} BP in the DRN predicts a decrease in amygdala bold signal reactivity (Fisher et al. 2006). Our results are in keeping with this finding, and go further by demonstrating that OXT is a major player in the functional link between DRN and amygdala and further suggest that

amygdala reactivity maybe crucial in the cascade of effects triggered by OXT on 5-HT_{1A} system.

We also found that variations of MPPF BP_{ND} in the right amygdala are correlated with MPPF BP_{ND} variation in right hippocampus, right insula and bilateral orbitofrontal cortex, a circuit important for regulating emotion, bodily stress and impulse inhibition. The relevance of this functional circuit for OXT's action has been shown in a previous fMRI study which revealed that connectivity between the amygdala and these regions is increased under OXT (Riem et al. 2011). Our results go beyond and suggest that OXT increases such functional connectivity through its regulation of the 5-HT_{1A} pathway.

Amygdala and hippocampus forms a unique anatomical complex and both are important target of OXT (Knobloch et al. 2012) and 5-HT (A R Hariri et Weinberger 2003) . The hippocampus display high level of 5-HT_{1A} receptors (Gross et al. 2002; Parks et al. 1998). Inactivation of the 5-HT_{1A} autoreceptors in transgenic mice is associated with increased anxiety and stress activity (Parks et al. 1998). Yet, when restoring 5-HT_{1A} expression and activity in the hippocampus the normal phenotype of the knockout mice is restored (Gross et al. 2002). Notably, OXT injection in this area suppresses freezing behavior, a reaction to fear and stressful conditions. Our results confirm that amygdala and hippocampus constitute a common ground where OXT and 5-HT interactions could regulate response to stress and anxiety.

OXT also enhanced the functional coupling of serotonin activity in the right amygdala and cortical regions such as the insula and the medio-ventral OFC, which are involved in a range of behavior including pain, social emotions processing, impulsivity and inhibitory control (Adolphs 2001). In particular we found bilateral effects of OXT on the OFC which receives strong projections from the amygdala (Monk 2008; Meyer-Lindenberg et al. 2011) as well as from the dorsal raphe nucleus (Roberts 2011). Hahn and collaborators have found in patients suffering from anxiety disorder an altered regulation of OFC through 5-HT_{1A} raphe auto-receptors (Hahn et al. 2009). Although our results do not show a functional correlation between

the OFC and the DRN, but rather between amygdala and OFC, they point to the importance of this region in OXT and 5-HT regulation.

In view of these findings, we propose that OXT is linked to serotonin by a reciprocal and coordinated functional relation similar to the links previously evoked between OXT and cortisol (Tops et al. 2007) or OXT and estrogen (McCarthy et al. 1996). This may be of relevance to psychiatric research. Indeed, the therapeutic potential of OXT has been demonstrated in autism (Andari et al. 2010), social anxiety disorders, impulse aggressivity or depression (Scantamburlo et al. 2009; Arletti et Bertolini 1987). Interestingly, decrease of 5-HT_{1A} receptor BP is a core biomarker of these pathologies (Lanzenberger et al. 2007; Drevets et al. 2007). Therefore, OXT effect on serotonergic system expressed as an increase of 5-HT_{1A} receptors BP might be crucial for predicting adaptive responses to social environments. Given the two neurotransmitters' implication in emotion-based behavior and psychiatric disorders, OXT and 5HT systems should probably be considered jointly as targets of future therapeutic interventions.

3. Supplementary Materials:

Materials and Methods:

1. Subjects:

A total of 20 healthy men participated in this study (mean age: 25.2 ± 5.59 years). Subjects with chronic diseases, mental disorders, on medication or those who smoked or abused drugs or alcohol were excluded. Participants were all French native speakers. Those criterions were evaluated during a medical exam, before the beginning of the experiment. All subjects gave written, informed consent and were instructed of their right to discontinue participation at any time. This study received the agreement of the ethical committee for biomedical research / (Comité de Protection des Personnes).

2. Experimental Design:

In this double blind placebo-controlled study, subjects underwent 2 PET-scans always at 12:30, separated by one week: one in order to evaluate 5HT_{1A} receptors Binding Potential (BP) during the basal state, the other one to assess the effect Oxytocin or Placebo intranasal administration. In this way, 10 volunteers received a spray containing the Oxytocin and 10 a Spray containing the Placebo. The order of the scans was randomized and counterbalanced. Participants abstained from food and drink (other than water) for 2 hours before the beginning of the experiment and from exercise, sexual relationship, caffeine, tobacco, Coca-Cola, tea, alcohol, chocolate, banana, dry fruits during the 24 hours before in order to get same physiological conditions between subjects. We control that subjects respected this condition the day of the experiment. If some patients reported that they didn't follow all the imposed conditions, they were excluded from the study.

Subjects also underwent a brain MRI to get their brain anatomical images that will allow specific localisation of radioligands activity. The MRI was performed after one of the two PET-scan exams in a counter-balanced and random order.

In order to control physiological conditions between subjects, we removed blood samples to assess biomarkers peripheral concentrations in the basal state, before and after spray administration.

- MRI :

Structural brain MRI was Performed using a 1,5-T Magnetom scanner (Siemens AG) and included a 3 dimensional anatomic T1-weighted sequence covering the whole brain volume, with 1 mm 3 cubic voxels; a turbo spin echoT2 sequence yielding 3-mm-thick slices perpendicular to the former plane.

- PET-scan:

Sequence of the PET:

PET-scan session always began at 12:30. During the 60 minutes PET acquisition, subjects are at rest in the machine, they have no task to do.

“Basal PET-scan”:

The day of the “basal exam”, subjects were conducted to the imagery center (CERMEP) at 11:50. They were quietly installed on the machine and then the intravenous catheter, necessary for the radioligand injection was placed in a vein of the left forearm around 12:00.

“Spray PET-scan”:

The day of spray administration, subjects were conducted to the imagery center (CERMEP) at 11:00.

As for the “basal PET-scan”, they were quietly installed on the machine and then the intravenous catheter, necessary for the radioligand injection was placed in a vein of the left forearm at 11:10. Therefore, the nasal spray was administered at 11:50, forty minutes before PET registration. Seven minutes after spray intake a blood sample was taken to evaluate spray administration on oxytocin concentrations.

Spray administration:

Participants were randomly assigned to either the experimental condition. In the Oxytocin group, individuals receive 24 IU OT (Syntocinon Spray, Novartis; 3 puffs per nostril, each puff containing 4 IU OT). In the control condition, they received a placebo containing all the ingredients present in the Oxytocin spray with the exception of Oxytocin. The participants are comfortably settled in a quiet room until the beginning of the registration, 40 minutes later (Born et al. 2002).

18F-MPPF PET:

18F-MPPF was obtained by nucleophilic fluorination of a nitro precursor with a radiochemical yield of 20% - 25 % at the end of the synthesis and a specific activity of 32-76 GBq/mmol (Didelot et al., 2010; Le bars et al., 1998).

Data Acquisition:

PET scans were obtained on a Biograph mCT PET-CT tomograph (Siemens). Measures for tissues and head support attenuation were performed with a 1-min low dose CT scan acquired before emission data acquisition. A bolus of 18F-MPPF at 2,7 MBq/kg was injected through an intravenous catheter placed in a vein of the left forearm (mean injected dose, 192 MBq for controls and 184 MBq for patients). A dynamic emission scan was acquired in List-mode during 60 min post-injection. 35 frames images were reconstructed using 3D-OP-OSEM iterative algorithm incorporating PSF and Time of Flight (with a Gaussian filter of 3mm) after correction for scatter and attenuation (128x128 voxels in-plane (2.12mm²) and 109 slices (2.03mm thickness). The resolution for the reconstructed images was about 2.6 mm in full width at half maximum in the axial direction and 3.1 mm in full width at half maximum in the transaxial direction for a source located at 1 cm from the field of view (Jakoby et al. 2011; Martí-Climent et al. 2013)

Data processing, Modeling of 18F-MPPF and Creation of Parametric Images of BPND :

For each subject, the T1-MR image was anatomically segmented using the MAPER method (Heckemann et al, 2010) based on a maximum probability brain atlas defining 83 regions (Hammers et al.). Anatomical and segmented images were then coregistered, with mutual information criteria, to the PET image using SPM8 software (Wellcome Trust Centre of Neuroimaging; <http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/software/spm8/>).

Parametric images of BP_{ND} were generated using a three-compartment simplified reference tissue model (SRTM) (Gunn et al. 1998). In this model, the assessment of free and nonspecific ligands kinetics is based on the time-activity curve (TAC) of a reference region (i.e., cerebellar white matter) that is devoid of specific 5-HT 1A receptor binding. Regional TACs were extracted using the previously segmented anatomical images.

BPND images were then spatially normalized into a standard MNI/ICBM 152 stereotactic space using SPM8. Deformation field from subject's space to MNI space was determined from the T1-MR image using the "New Segment" function of SPM8, and then applied to the raw BPND images. Normalized images were smoothed using an isotropic Gaussian kernel of 8 mm in full width at half maximum.

3. Data Analyses:

Analyses of Imaging data :

PET data were analysed using the software SPM version 8. SPM analysis was conducted using a flexible factorial design.

We wanted to assess the effect of oxytocin administration on MPPF BP_{ND} compared to the basal state. We have strong hypothesis concerning brain regions where we waiting for an effect of oxytocin on the serotonergic system corresponding to brain regions targeted by both oxytocin and serotonin systems. Thus, we used a mask of analysis containing the following brain regions: raphe nuclei, insula, amygdala, hippocampus, para-hippocampal gyrus, anterior cingulate cortex, orbito-frontal cortex defined using HammersN30R83 maximum probability atlas. We waited for a significant effect on voxels at $p < 0.01$ and threshold the cluster size with the number of voxels expected by the SPM statistical model.

Then, we wanted to assess if the MPPF BP_{ND} variation observed after oxytocin is correlated between the regions targeted by the oxytocin administration. In particular, if the general effect

of oxytocin observed was driven by its action on the core region of the serotonergic system: the raphe nuclei.

The DRN region was delineated by selecting connected voxels exceeding 80% of the maximum voxel in the brain stem, on the average PET BP_{ND} image at the basal state. The mean MPPF BP_{ND} value in DRN for each subject was extracted thanks to SPM in the basal state and after oxytocin and then covaried out with every voxels within the mask including brain regions responding to OXT administration.

We used the same criterion of analysis: We were waiting for a significant effect on voxels at $p < 0.01$ and threshold the cluster size with the number of voxels expected by the SPM analysis.

Finally, as the previous analysis revealed a strong correlation between raphe nuclei and the right amygdala and that amygdala is known to be an important target of oxytocin action, we looked for a relationship between the BP_{ND} in the right amygdala (Seed region) and the regions where OXT has a significant effect (Fig. 1.). Amygdala was defined using the HammersN30R83 maximum probability atlas. The mean MPPF BP_{ND} of the right amygdala for each subject was extracted in the basal state and after oxytocin and then covaried out with every voxels within the mask including brain regions responding to OXT administration.

Table S1. Mean MPPF BP_{ND} in the basal state for each regions integrated in the mask of analysis. We exposed here the mean of MPPF BP_{ND} of brain regions where 5-HT_{1A} R are mainly localized in the basal state (fig.1. A). These regions were integrated to the mask used for SPM analysis

Brain Regions	BA	N	Mean MPPF BP _{ND}
Left amygdala/hippocampus/parahippocampus complex	-/-/30	20	1.73 ± 0.16
Right amygdala/hippocampus/hippocampus complex	-/-/30	20	1.75 ± 0.17
Left insula	13	20	0.93 ± 0.09
Right insula	13	20	0.98 ± 0.09
Left orbitofrontal cortex	47/11	20	0.77 ± 0.08
Right orbitofrontal cortex	47/11	20	0.79 ± 0.09
ACC	24/32	20	0.83 ± 0.09
Raphe nuclei	-	20	0.65 ± 0.12

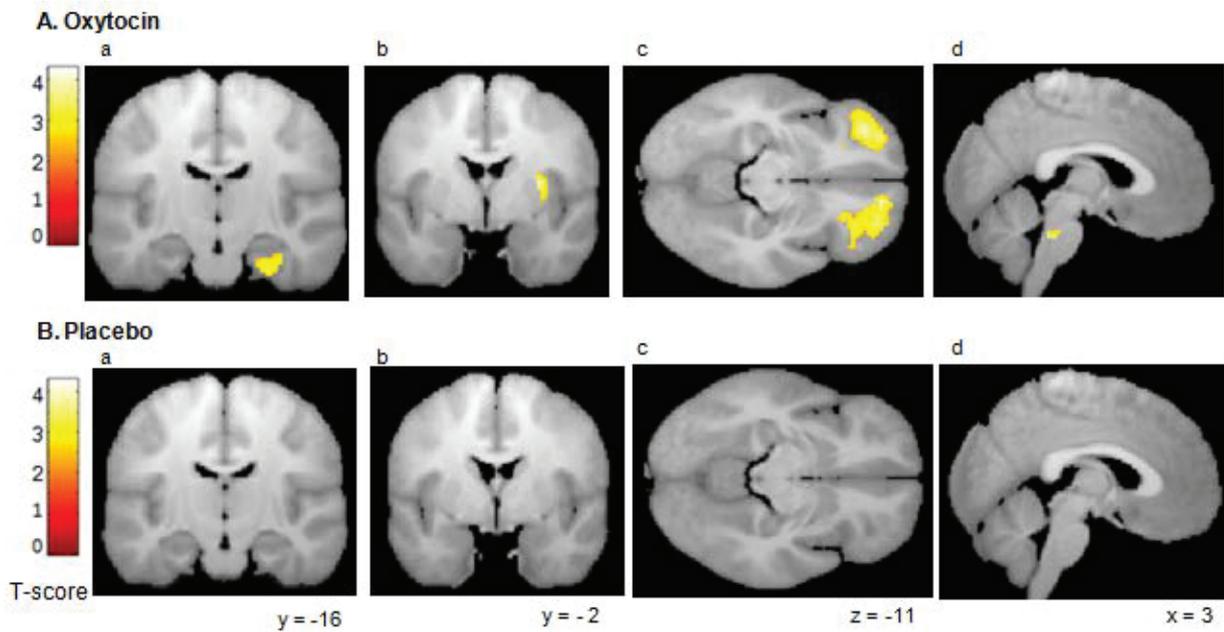


Fig. S1. Statistical parametric map (SPM-t): MPPF BPND variation after oxytocin (A) and after placebo (B)

We assessed the effect of OXT on the serotonin system activity by targeting the 5-HT_{1A} receptors (5-HT_{1A} R) in an oxytocin/placebo double blind investigation with the [¹⁸F]MPPF. SPM analysis (voxel threshold $p < 0.01$; cluster size: $K \geq 122$) showed a significant effect of the OXT administration on the MPPF BP_{ND}. After oxytocin, MPPF BP_{ND} significantly increased ($p < 0.001$) in the dorsal raphe nucleus and in the right amygdala, the hippocampus, the right insula, the right and left orbitofrontal cortex, (A). No significant effects in the placebo group (B) were found.

Table S2. Average MPPF BP_{ND} over subject in the Oxytocin group (N=10) and the Placebo group (N=10), at the basal state and after spray administration. Brain regions selected were significant, or nearly significant, in the OXT versus basal voxel based SPM comparison. Regions were delineated thanks to the HammersN30R83 maximum probability atlas. The mean of the individual test-retest percentage of variation (% Δ) is given in the third column.

Brain regions	R/L	Group	MPPF BP _{ND} (mean ± SD)		
			Basal state	After spray	% Δ
Amygdala/hippocampus/ parahippocampus complex	R	Oxytocin	1.80 ± 0.51	1.83 ± 0.54	1.20 ± 2.69*
		Placebo	1.73 ± 0.50	1.75 ± 0.49	-2.07 ± 0.83
	L	Oxytocin	1.78 ± 0.13	1.78 ± 0.14	-0.08 ± 4.35
		Placebo	1.683 ± 0.17	1,682 ± 0.18	-0.21 ± 6.51
Insula	R	Oxytocin	0.96 ± 0.121	0.99 ± 0.124	3.04 ± 3.52*
		Placebo	0.99 ± 0.12	1.00 ± 0.12	0.71 ± 6.42
	L	Oxytocin	0.91 ± 0.06	0.92 ± 0.07	0.97 ± 3.08
		Placebo	0.95 ± 0.12	0.957 ± 0.12	0.70 ± 4.05
Dorsalis raphe nucleus	-	Oxytocin	0.69 ± 0.05	0.71 ± 0.05	3.40 ± 3.37*
		Placebo	0.66 ± 0.04	0.66 ± 0.03	-0.08 ± 4.15
Orbitofrontal cortex (OFC)	R	Oxytocin	0.80 ± 0.096	0.83 ± 0.09	3.62 ± 5.48*
		Placebo	0.78 ± 0.096	0.77 ± 0.10	-1.16 ± 6.09
	L	Oxytocin	0.78 ± 0.086	0.81 ± 0.0	4.13 ± 6.33*
		Placebo	0.76 ± 0.91	0.76 ± 0.1	0.20 ± 5.65
Anterior cingulate cortex (ACC)	-	Oxytocin	0.84 ± 0.083	0.85 ± 0.07	1.83 ± 1.80
		Placebo	0.83 ± 0.12	0.83 ± 0.11	0.07 ± 0.48

*significant variation after spray administration compared to basal state revealed by SPM analysis (Fig.1.)

B. CHAPITRE 2 : LA RELATION ENTRE OCYTOCINE ET SEROTONINE EST-ELLE ATTEINTE DANS LA PATHOLOGIE DE L'AUTISME ?

Article en préparation:

Impaired 5-HT_{1A} Pathway in Asperger Patients is rescued by Oxytocin Administration

Raphaëlle Mottolese, Jerome Redoute, Nicolas Costes, Didier Lebars, Marion Leboyer, Angela Sirigu

Présentation et Résumé de l'étude

Nous avons montré dans l'étude précédente que l'ocytocine était capable de moduler l'activité de la sérotonine à travers une augmentation du potentiel de liaison (BP) du récepteur 5-HT_{1A}. Etant donné l'implication des deux neurotransmetteurs dans la pathologie de l'autisme, nous avons voulu étudier le devenir de cette interaction entre OT et 5-HT chez les patients touchés par le syndrome d'Asperger. Par conséquent, de la même manière que pour les sujets sains nous avons évalué l'effet de l'administration de l'ocytocine sur le système sérotoninergique par une étude en double aveugle utilisant la Tomographie par Emission de Positron (TEP) avec le radiotracer [18F]MPPF spécifique des récepteurs 5-HT_{1A} de la sérotonine. De plus, à notre connaissance peu d'études ont étudié l'expression de ces récepteurs à la sérotonine dans le cadre de la pathologie de l'autisme. Par conséquent l'intérêt de cette étude est donc double.

Ainsi quatorze patients Autistes de Haut Niveau ou touchés par le syndrome d'Asperger ont participé à cette étude. Nos résultats ont mis en évidence chez les patients une diminution significative du potentiel de liaison du MPPF BP, traduisant une déficience du système des 5-HT_{1A} R, au niveau du raphé dorsal, de l'amygdale et de l'hippocampe ainsi qu'au niveau de l'insula. Toutes ces régions possèdent en condition normale un niveau élevé de récepteurs 5-HT_{1A} et sont des régions clés du comportement touchées dans la pathologie de l'autisme. Les récepteurs 5-HT_{1A} tenant un rôle capital dans le développement cérébral, ce déficit au niveau de ces récepteurs pourraient ainsi faire partie intégrante de l'étiologie de l'autisme et participer aux différents dommages cérébraux typiques de l'Autisme. L'administration de l'OT supprime cette différence significative au niveau des 5-HT_{1A} R entre patients et sujets sains. Par conséquent de par sa capacité à modifier l'activité sérotoninergique l'OT semble pallier à un symptôme physiologique de l'autisme. L'autisme étant caractérisé par une dérégulation du système sérotoninergique, l'action de l'OT sur la 5-HT pourrait donc être primordiale dans cette pathologie.

Ces résultats soulignent le potentiel thérapeutique du neuropeptide et suggère que la relation entre ocytocine et sérotonine devrait être pris en compte dans l'élaboration des futurs traitements.

5-HT_{1A} Receptors impairments in Asperger Patients counterbalanced by Oxytocin Administration

Raphaële Mottolèse, Jerome Redoute, Nicolas Costes, Didier Lebars, Marion Leboyer, Angela Sirigu

1. Abstract

Autism spectrum disorder (ASD) is characterized by impairment in both oxytocinergic and serotonergic system. Thus, the interplay between these two neurotransmitters might play a crucial role in this pathology. Therefore, in a double blind placebo control study we assessed the effect of oxytocin administration on the serotonin central activity through Positron Emission Tomography using the radioligand [18-F]MPPF specific for the 5-HT_{1A} receptors which are localized in strategic brain regions for social behaviour. Our analysis revealed a significant decrease of MPPF BP_{ND} in Asperger patients compared to controls. Oxytocin administration suppressed this difference between patients and controls. These results strengthen the role of oxytocin in social behavior and underline the therapeutic potential of this neuromodulator for psychiatric disorders implicating both serotonin and oxytocin dysfunctions.

2. Introduction

Autism spectrum disorder (ASD) gathers together a group of pervasive neurodevelopmental disorders all characterised by severe impairments in communication and social functioning (Hadjikhani 2010). Despite the great attention that research has dedicated to this pathology, its neurobiology remains unclear and no effective treatments have been found yet. To uncover the causes of this pathology and to find an effective treatment is still one of the most important challenges for current research. In this direction, during the last decade, literature provided growing evidence for the implication and the therapeutic potential of oxytocin in autism (Bartz and Hollander 2008; Modi and Young 2012).

Oxytocin is a natural hormone synthesized in the paraventricular (PVN) and supraoptic nucleus (SON) of the hypothalamus (Moos and Richard 1989) and delivered at both peripheral and central level (Bealer, Armstrong, and Crowley 2010). Oxytocin action in our brain is crucially linked to different aspects of our social behavior (for review see (Bartz et al. 2011; Feldman 2012). Consistently, it has been demonstrated that oxytocinergic system is impaired in patients suffering from autistic spectrum disorder (ASD). For instance previous studies showed a decrease of oxytocin peripheral concentration in autistic individuals (Modahl et al. 1998) as well as abnormal process of oxytocin synthesis (Green et al. 2001) and genetic anomalies concerning the oxytocinergic system.

It has been suggested that part of the oxytocin system impairment in autism may result from the deregulation of serotonin (5-hydroxytryptamine, 5-HT) (P M Whitaker-Azmitia 2001), another neurotransmitter also implicated in social behavior (Lucki 1998) and in autism (Zafeiriou, Ververi, and Vargiami 2009). For instance, investigations of genetic manipulation in rats revealed that inducing hyperserotonemia provokes a loss of oxytocinergic cells in the hypothalamus (Patricia M. Whitaker-Azmitia 2005). The impact of serotonin deregulation on oxytocinergic system confirms the idea that these two neurotransmitters are strictly related. Moreover, this hypothesis is confirmed by the fact that both oxytocin and serotonin are highly

implicated in social behavior and that alterations of these two neurotransmitters are related many psychiatric disorders such as depression and social anxiety. Abnormal activity of serotonergic system in autism has been well documented too. For instance the brain of children suffering from autism is characterized by an increase platelets serotonin (Chandana et al. 2005) as well as abnormalities serotonin synthesis compared to controls (Chandana et al. 2005; Chugani 2002).

Interestingly, serotonin neurons project directly to the PVN and SON (Emiliano et al. 2007) where a highly concentration of oxytocinergic neurons has been identified (Sawchenko et al. 1983). Accordingly previous literature suggested that serotonin may influence oxytocinergic system activity (Jørgensen et al. 2003; Ho, Chow, and Yung 2007). Crucially, in a previous PET study with healthy adults participants, we showed that oxytocin modulates serotonergic human brain activity by enhancing MPPF BP_{ND}, the radioligand specific for 5-HT receptors, and that this especially concerns regions strongly implicated in social behavior such as raphe nuclei, right insula, (Bartz et al. 2011; Peroutka 1995)right and left orbitofrontal cortex as well as right amygdala/hippocampus/parahippocampus complex (Mottolese et al. *in preparation*).

The role of either OT and 5-HT in social behavior (Peroutka 1995) as well as their implication in other psychiatric disorders such as depression and social phobia (Drevets et al. 2007; Lanzenberger et al. 2007) raises the question of a crucial combined action of these two neurotransmitters in the autism pathology especially for therapeutic strategies development.

Previous pharmacology studies have signaled the therapeutic potential of the interaction of serotonin and oxytocin, by discussing in favor of OT as mediator of serotonin reuptake inhibitors (SSRIs) antidepressant properties (Uvnas-Moberg and Petersson 2005). Thus, to focus on oxytocin ability to increase 5-HT_{1A} BP_{ND} seems to be a promising direction to follow to for research in the context of psychiatric disorders in which social functioning is impaired.

To our knowledge, most of research concerning autism neurophysiology focused its attention on the serotonin transporter (Nakamura et al. 2010), so that few are the studies that target the 5-

HT_{1A} receptors using PET-scan study in patients suffering from autistic spectrum disorders (ASD). Nevertheless, given its localization in brain regions essential for social behavior (Costes et al. 2005; Varnäs, Halldin, and Hall 2004) 5-HT_{1A} receptors have been hypothesized to be implicated in this pathology (Chugani 2002). For instance, it has been demonstrated that 5-HT_{1A} R deficient mice developed platelet hyperserotonemia associated with behavioral impairment as well as patients with Autism (Klemenhagen et al. 2006).

In the current study we argue that autistic individuals may exhibit lower level of 5-HT_{1A} R binding potential (BP) compared to healthy controls and we test the hypothesis that oxytocin may counterbalance this difference thanks to its capacity to modulate 5-HT_{1A} R BP_{ND}. To this aim we used the same experimental protocol employed in a previous study with healthy participants and we tested by means of PET [18-F]MPPF, specific radiotracer of the 5-HT_{1A} receptors scan fourteen patients with diagnosis of high functioning autism or Asperger syndrome by combining evaluation of 5-HT_{1A} R and assessment of oxytocin effect on patients' serotonergic activity. Given the social functioning impairment characteristic of autism and given the implication of serotonin in social behavior, we do expect for differences between patients and controls MPPF BP_{ND} level especially in those brain regions essential for social behavior and known to be impaired in autism such as limbic areas (amygdala and hippocampus), insula, ACC, OFC and in particular raphe nuclei. Moreover, these regions are known to be targeted by both oxytocinergic and serotonergic system. In addition, basing on our previous results showing that these regions are the target for the oxytocin modulation of MPPF BP_{ND} (Mottolese et al., *in submission*) we further suggest that effect of oxytocin intake to be crucial for compensating the serotonin differences between patients and controls.

3. Materials and Methods:

Subjects :

Fourteen patients diagnosed with high functioning autism (HFA, N = 2) or Asperger syndrome (AS, N= 14) (mean age: 34.5 ± 6.32) and twenty healthy subjects (mean age: 25.2 ± 5.59 years) participated in the study. Patients were recruited from the expert centers (Fondation Fondamental) Chenevriier-Mondor Hospital in Creteil and diagnosed using the ADI-R (Autism Diagnosed Interview-Revised) (Total IQ: 95.5 ± 18.5 ; ADI-R : social interaction : 14.6 ± 6.7 , communication : 8.3 ± 3.4 , repetitive behaviors : 3.75 ± 2.31)

All of them was French native speaker and gave written informed consent. Exclusion criteria for all participants included any kind of addiction to drugs, alcohol, or tobacco (15+ cigarettes per day) as well as neurologic, psychiatric or cardiovascular antecedents and contraindications to IRM. All these criterions were assessed during a medical exam participants underwent prior to the experiment. Participants were all. This study received the agreement of the local ethical committee for biomedical research (CPP sud est IV).

Please note that the twenty healthy participants of this study were those who participated in the previous study (Mottolese et al., *in preparation*) concerning oxytocin and serotonin interaction in healthy subjects. Since this the effect of Oxytocin in healthy subjects was previously discussed, here we will focus only on patients.

Experimental Design:

This is a double blind placebo-controlled study. Participants underwent 2 pets-scans always at the same time of the day (12:30 pm), with a one week delay in between. One scan in order to evaluate 5HT_{1A} receptors Binding Potential (BP) during the basal state and the other to assess the effect Oxytocin or Placebo intranasal administration. Oxytocin and Placebo intake were counterbalanced across participants by the pharmacist responsible for supply so that seven

patients and ten controls received a spray containing the Oxytocin and seven patient and ten controls received a spray containing the Placebo. The order of the scans was also counterbalanced. In order to have specific localization of radioligand activity an anatomical brain MRI was performed after one of the two PET-scan exams in a counter-balanced and random order.

In order to control for the physiological conditions, participants were asked to abstain from food and drinks (other than water) for 2 hours before the beginning of the experiment, and to avoid physical exercise, sexual relationship, caffeine, tobacco, Coca-Cola, tea, alcohol, chocolate, banana as well as dry fruits during the 24 hours preceding the experiment. The day of the experiment, we controlled for respect of these conditions, if some of participants reported that they didn't follow all the imposed conditions, they were excluded from the study. Blood samples were also collected to control physiological conditions between subjects and to test biomarkers peripheral concentrations in the basal state, before and after spray administration.

- MRI:

Structural brain MRI was Performed using a 1,5-T Magnetom scanner (Siemens AG) and included a 3 dimensional anatomic T1-weighted sequence covering the whole brain volume, with 1 mm 3 cubic voxels; a turbo spin echoT2 sequence yielding 3-mm-thick slices perpendicular to the former plane.

- PET-scan:

Sequence of the PET:

PET-scan session always began at 12:30. During the 60 minutes PET acquisition, subjects are at rest in the machine, they have no task to do.

“Basal PET-scan”:

The day of the “basal exam”, subjects were conducted to the imagery center (CERMEP) at 11:50. Around 12:00 they were quietly installed on the machine and then the intravenous catheter, necessary for the radioligand injection was placed in a vein of the left forearm.

“Spray PET-scan”:

The day of spray administration, subjects were conducted to the imagery center (CERMEP) at 11:00 am.

As for the “basal PET-scan”, they were quietly installed on the machine and then the intravenous catheter, necessary for the radioligand injection was placed in a vein of the left forearm at 11:10. Therefore, the nasal spray was administered at 11:50, forty minutes before PET registration. Seven minutes after spray intake a blood sample was taken to evaluate spray administration on oxytocin concentrations.

Spray administration:

Participants were randomly assigned to either the experimental condition. In the Oxytocin group, individuals receive 24 IU OT (Syntocinon Spray, Novartis; 3 puffs per nostril, each puff containing 4 IU OT). In the control condition, they received a placebo containing all the ingredients present in the Oxytocin spray with the exception of Oxytocin. The participants were comfortably settled in a quiet room until the beginning of the registration, 40 minutes later (Born et al. 2002).

18F-MPPF PET:

18F-MPPF was obtained by nucleophilic fluorination of a nitro precursor with a radiochemical yield of 20% - 25 % at the end of the synthesis and a specific activity of 32-76 GBq/mmol (Le Bars et al. 1998; Didelot et al. 2010).

Data Acquisition:

PET scans were obtained on a Biograph mCT PET-CT tomograph (Siemens). Measures for tissues and head support attenuation were performed with a 1-min low dose CT scan acquired before emission data acquisition. A bolus of ^{18}F -MPPF at 2,7 MBq/kg was injected through an intravenous catheter placed in a vein of the left forearm (mean injected dose, 192 MBq for controls and 184 MBq for patients). A dynamic emission scan was acquired in List-mode during 60 min post-injection. 35 frames images were reconstructed using 3D-OP-OSEM iterative algorithm incorporating PSF and Time of Flight (with a Gaussian filter of 3mm) after correction for scatter and attenuation (128x128 voxels in-plane (2.12mm^2) and 109 slices (2.03mm thickness). The resolution for the reconstructed images was about 2.6 mm in full width at half maximum in the axial direction and 3.1 mm in full width at half maximum in the transaxial direction for a source located at 1 cm from the field of view (Jakoby et al. 2011; Martí-Climent et al. 2013)

Data processing, Modeling of ^{18}F -MPPF and Creation of Parametric Images of BPND :

For each subject, the T1-MR image was anatomically segmented using the MAPER method (Heckemann et al. 2010) based on a maximum probability brain atlas defining 83 regions. Anatomical and segmented images were then coregistered, with mutual information criteria, to the PET image using SPM8 software (Wellcome Trust Centre of Neuroimaging; <http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/software/spm8/>).

Parametric images of BP_{ND} were generated using a three-compartment simplified reference tissue model (SRTM) (Gunn et al. 1998). In this model, the assessment of free and nonspecific ligands kinetics is based on the time-activity curve (TAC) of a reference region (i.e., cerebellar white matter) that is devoid of specific 5-HT 1A receptor binding. Regional TACs were extracted using the previously segmented anatomical images.

BPND images were then spatially normalized into a standard MNI/ICBM 152 stereotactic space using SPM8. Deformation field from subject's space to MNI space was determined from

the T1-MR image using the “New Segment” function of SPM8, and then applied to the raw BPND images. Normalized images were smoothed using an isotropic Gaussian kernel of 8 mm in full width at half maximum.

- Physiological measure: Dosage of the oxytocin and serotonin peripheral concentrations

Blood Sampling:

In order to dose oxytocin, samples of six millilitres of blood are taken by a nurse in EDTA tube and immediately put in the ice concerning the dosage oxytocin. For serotonin, blood is taken in 7 ml Tube Sec and took under cover of light. Then samples were sent to Neurobiotec (*Hospital Neurologique*), which is in charge of the centrifugation (2000x g at 4° during 10 minutes) and of tubes storage.

3. Data Analyses:

Analyses of Imaging data :

PET data were analyzed using the software SPM version 8.

First, we tested if there were differences in MPPF BP_{ND} between patients (N = 14) and controls (N = 20) in the basal state using a two samples t-test model of SPM.

We have strong hypothesis concerning brain regions where we expect an effect of oxytocin on the serotonergic system corresponding to brain regions targeted by both oxytocin and serotonin systems and supposed to be impaired in autism. Thus, we used a mask of analysis containing the following brain regions: raphe nuclei, insula, amygdala, hippocampus, para-hippocampal gyrus, anterior cingulated cortex, orbito-frontal cortex defined using HammersN30R83 maximum probability atlas. We expected a significant effect on voxels at $p < 0.01$ and threshold the cluster size with the number of voxels expected by the SPM statistical model.

Then, we wanted to assess if the MPPF BP_{ND} differences between patients under oxytocin (N = 7) and controls (N = 20, still in the basal state). We used the same previous design for the analysis.

Finally, we compared MPPF BP_{ND} after spray administration compared to the basal state for each group of patients (oxytocin or placebo).

Analyses of peripheral physiological data :

The peripheral physiological data were analyzed with the software Statistica version 7. We tested the Gaussian distribution of the data thanks to Shapiro Wilk tested. As the analysis revealed that the distribution of oxytocin concentration was not Gaussian (W = 0.855; p = 0.00648), we used the Friedman ANOVA for non parametric samples in order to test the effect of spray administration. Then we tested the differences between condition (basal, before spray, after spray) for both group (oxytocin and placebo) thanks to Wilcoxon test for paired samples.

4. Results

The aim of this study was to test first if autistic patients and healthy controls differ in the level of 5-HT_{1A} Binding Potential (BP) and second if oxytocin administration might influence such difference.

Significant decrease of MPPF BP_{ND} in patients compared to controls

We assessed the difference of serotonin system activity between patient (N=14) and controls (N=7) by targeting the 5-HT_{1A} receptors (5-HT_{1A} R).

Brain mapping of 5-HT_{1A} R in the basal state of the twenty healthy subjects indicated that 5-HT_{1A} R are mainly localized in limbic areas (amygdala and hippocampus), the insula, the dorsalis raphe nucleus, the orbitofrontal cortex and the anterior cingulate cortex (Figure 1 A). Thus, we analyzed the difference of MPPF BP_{ND} between patients (N= 14) and controls (N=20)

within a mask including the brain regions found in the twenty healthy subjects in the basal state (A) using the HammersN30R83 maximum probability atlas. Our analysis (SPM results: individual voxel threshold: $p < 0.01$; cluster size: $K \geq 137$) revealed a significant decrease of MPPF BP_{ND} in patients compared to controls (Figure 1.B.) in the right ($p = 0.002$) and left ($p = 0.001$) amygdala and hippocampus complex, the right and left anterior insula ($p = 0.001$) and the dorsalis raphe nucleus ($p < 0.001$). For complete statistical results, see Table 1.

Table 1. MPPF BP_{ND} significant decreases in patients compared to controls in the basal state. This table summarizes the statistical results corresponding to the SPM analysis evaluating the difference of MPPF BP_{ND} in the basal state between patients and controls. Each cluster can be seen on figure 1.

Brain regions	Cluster size	<i>peak</i>		MNI coordinates		
		Z-score	p value	x	y	z
Dorsalis raphe nucleus	343	3.69	< 0.001	8	-25	-24
Left amygdala/hippocampus complex	275	2.98	= 0.001	-24	-16	-24
Right amygdala/hippocampus complex	136	2.84	= 0.002	30	-30	-12
Left Insula	389	3.07	= 0.001	-40	5	-14
Right Insula	212	3.23	= 0.001	40	10	-15

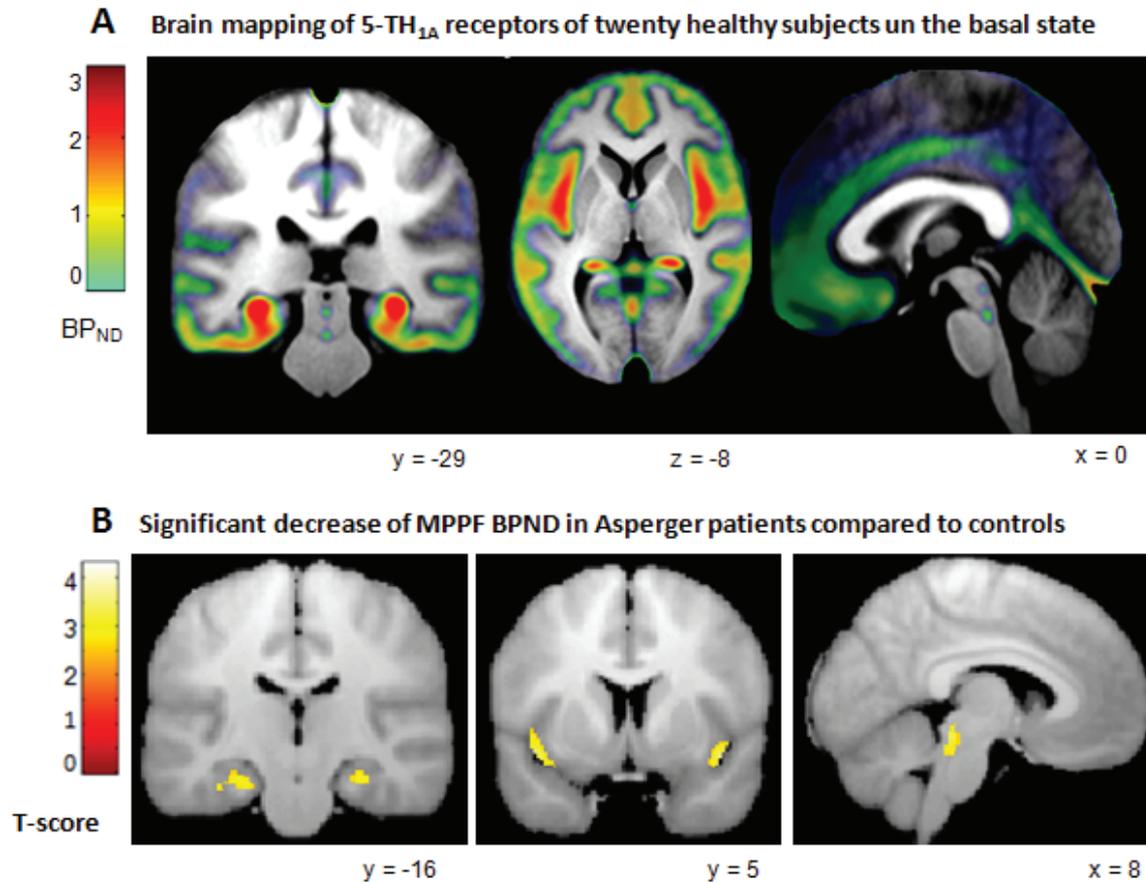


Figure 1. Significant decrease of MPPF BPND in Asperger patients (B) compared to healthy subjects in the basal state (A).

We assessed the differences of serotonin system activity between patients (N =14) and controls (N=20) by targeting the 5-HT_{1A} receptors (5-HT_{1A} R) in the basal state **A**) Brain mapping of 5-HT_{1A} R in the basal state of the twenty healthy subjects. 5-HT_{1A} R are mainly localized in limbic areas (amygdala and hippocampus), the insula, the dorsalis raphe nucleus, the orbitofrontal cortex and the anterior cingulate cortex. The color scale ranges from the minimum to the maximum MPPF binding potential (BP_{ND}) in the image. **B**) Statistical T-map showing the significant difference between patients and controls. SPM results (individual voxel threshold: $p < 0.01$; cluster size: $K \geq 137$) showed that MPPF BP_{ND} is significantly decreased in patients compared to controls in the right ($p = 0.002$) and left ($p = 0.001$) amygdala and hippocampus complex ($y = -16$), the right and left anterior insula ($p = 0.001$, $y = 5$) and the dorsalis raphe nucleus ($p < 0.001$, $x = 8$).

Oxytocin erases the significant differences of MPPF BP_{ND} between patients and controls

We tested the effect of oxytocin administration in patients. In this double blind placebo/control study, seven patients received the oxytocin and seven received a placebo. SPM analysis (individual voxel threshold: $p < 0.01$) revealed that after oxytocin there were no more significant difference between patients under oxytocin (N=7) and controls in the basal state (N=20) (Figure 2.A.). However, there were still significant differences between patients under placebo

(N=7) and controls in the basal state (N = 20) in particular in both right and left insula (Figure 2. B.).

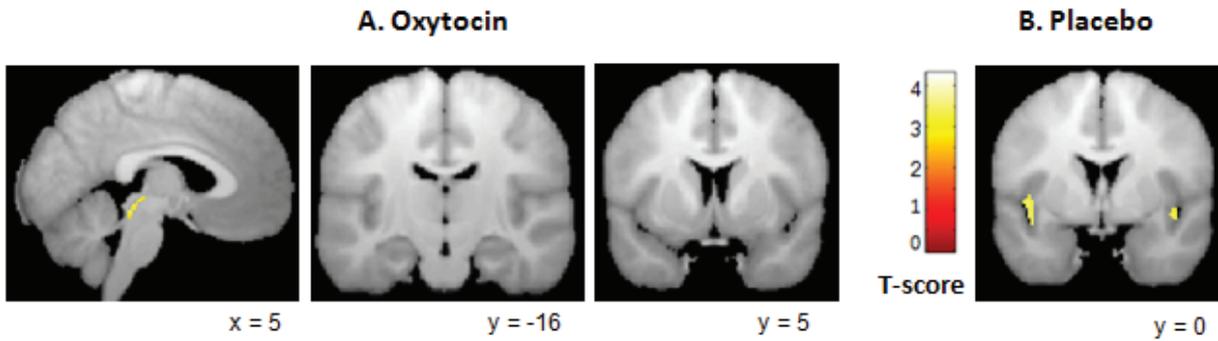


Figure 2. Difference between patients and controls MPPF BP_{ND} after oxytocin (A) and placebo (B)

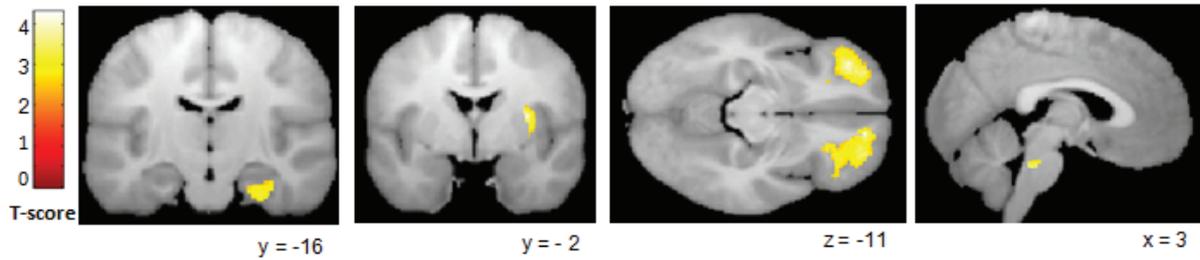
In a double blind control study we tested the effect of oxytocin administration in patients. Hence seven patients received oxytocin and seven received a placebo. SPM analysis (individual voxel threshold: $p < 0.01$) revealed that after oxytocin there were no more significant differences between patient under oxytocin (N=7) and controls (N=20) in the basal state (A). There were still significant differences between patients under placebo (N=7) and controls in the basal state (N = 20) in particular in both right and left insula (B).

Oxytocin modulation of MPPF BP_{ND} still present but impaired in patients compared to controls

In a previous study, using same experimental design and model of analysis, we found that oxytocin significantly increases MPPF BP_{ND} in right amygdala/hippocampus/para-hippocampus complex, in right insula, right and left orbito-frontal cortex and raphe nuclei (Figure 3. A).

In the same way, we assessed the effect of oxytocin administration on patients MPPF BP_{ND}. SPM analysis (individual voxel threshold: $p < 0.01$; cluster size: $K \geq 38$) revealed an increase of MPPF BP_{ND} in left amygdala and hippocampus complex ($p = 0.001$), left orbitofrontal cortex ($p = 0.001$), right insula ($p = 0.001$) (Figure 3. B). However, the effect of oxytocin was clearly lower in patients (Figure 3. B) relative to the oxytocin effect measured in controls (Figure 3. A).

A. MPPF BP_{ND} increase after Oxytocin in healthy subjects



B. MPPF BP_{ND} increase after Oxytocin in Asperger patients

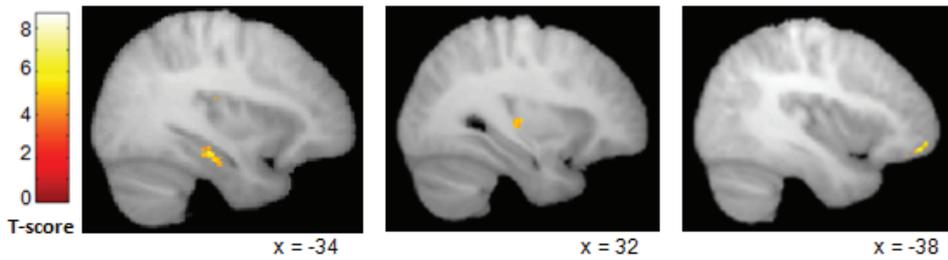


Figure 3. Increase of MPPF BP_{ND} after oxytocin administration in controls (A) and patients (B)

In a previous study, using same design and model of analysis, we found that oxytocin significantly increases MPPF BP_{ND} in right amygdala/hippocampus/para-hippocampus complex ($y = -16$), in right insula ($y = -2$), right and left orbito-frontal cortex ($z = -11$) and raphe nuclei ($x = 3$) (A). In the same way, we assessed the effect of oxytocin administration on patients MPPF BP_{ND}. SPM analysis (individual voxel threshold: $p < 0.01$; cluster size: $K \geq 38$) revealed an increase of MPPF BP_{ND} in left amygdala and hippocampus complex ($p = 0.001$, $x = -34$), right insula ($p = 0.001$; $x = 32$) left orbitofrontal cortex ($p = 0.001$, $x = -38$), (B).

However the effect of oxytocin was clearly lower in patients (B) compared to the oxytocin effect measured in controls (A).

For complete statistical results concerning the effect of oxytocin administration of oxytocin on MPPF BP_{ND} in patients see Table 2 below.

Table 2. MPPF BP_{ND} significant decreases in patients compared to controls in the basal state.

This table summarizes the statistical results corresponding to the SPM analysis evaluating the difference of MPPF BP_{ND} in the basal state between patients and controls. Each cluster can be seen on figure 1.

Brain regions	Cluster size	peak		MNI coordinates		
		Z-score	p value	x	y	z
Left amygdala/hippocampus complex	38	3.01	= 0.001	-34	-25	-15
Left OFC	40	3.20	= 0.001	-38	48	-14
Right Insula	23	3.26	= 0.001	32	-21	3

5. Discussion

Serotonin anomalies are one of the core characteristic of autism spectrum disorder that appears at the early stages of development (for review see (Zafeiriou, Ververi, and Vargiami 2009). Given the important role of serotonergic system in several development processes, serotonin dysfunction has been associated to abnormal neurophysiology in autism. Accordingly, the 5-HT_{1A} R have been linked to brain development and high concentration of 5-HT_{1A} R receptors have been indicated in social brain regions (Chugani 2002). Global and focal abnormalities of serotonin synthesis have been reported in children suffering from autism (Chandana et al. 2005). Findings from genetics further support this idea by demonstrating that mice knock out for the 5-HT_{1A} receptors gene exhibit abnormalities similar to those observed in autistic phenotype such as hyperserotonemia and impaired social behavior (Klemenhausen et al. 2006). In accordance, our results showed that compared to healthy controls Asperger individuals presented significantly lower levels of MPPF BP_{ND}, which is a highly selective antagonist of 5-HT_{1A} R similar to 5HT (Zhuang et al. 1994) and is able to bind to both auto and hetero receptors (located respectively in Raphe nuclei and projection areas) (Thielen, Fangon, and Frazer 1996). As expected, the decrease of MPPF BP_{ND} concerned especially brain regions essential for social behavior such as amygdala/hippocampal complex, insula and dorsal raphe nucleus (Figure 1.A). We found Raphe nuclei to be one of the crucial regions for decrease of MPPF BP_{ND}. This region is considered as one of the target loci of the serotonergic system that control 5-HT neuron activity and central 5-HT release (Hornung 2003; R. Y. Moore, Halaris, and Jones 1978). 5-HT_{1A} R receptors in the Raphe nuclei are defined as auto-receptors and are crucially implicated in the regulation of the serotonin activity (Frey et al. 2008; Bonvento et al. 1992). An important role is assigned to 5-HT_{1A} receptors during brain development (Janusonis et al. 2006; Gross et al. 2002) and they seem to be essential for normal affective behavior expression throughout the life (Gross et al. 2002; Hasler et al. 2004).

Our results revealed a significant decreased of MPPF BP_{ND} in patients also in limbic areas: insula and amygdala/hippocampus complex. This result demonstrate that the 5-HT_{1A} receptors system is altered not only at the pre-synaptic but also at the post-synaptic level (5-HT_{1A} heteroreceptors in projections areas), affecting both auto and hetero 5-HT_{1A} receptors.

Consistently with our results, the insula is a brain region highly implicated in affective processing and contributing to our empathetic feeling towards others (Ralph Adolphs 2009). Moreover, dysfunctions of anterior insula and its connectivity to other brain regions have been previously demonstrated to be part of neural correlates of autism (Uddin and Menon 2009). Amygdala (Schultz 2005; Baron-Cohen et al. 2000) and hippocampus (Raymond, Bauman, and Kemper 1996; Bristot Silvestrin et al. 2013) are two brain regions in which serotonergic system is highly present. Interestingly, anatomical and functional anomalies of these regions have been reported in autism (Schultz, 2005). Amygdala receives abundant serotonin projections from raphe nuclei and displays numerous serotonin receptors including 5-HT_{1A} R (Hariri and Weinberger 2003). Similarly, abundant concentration of 5-HT_{1A} receptors has been indicated in the hippocampus of adult rodents (Chugani 2002). Amygdalar and Hippocampal dysfunctions have been suggested to be responsible of high level of stress and anxiety typical of children suffering from autism (Gillott, Furniss, and Walter 2001). Accordingly, 5-HT_{1A} receptor expression impairments have been linked to high levels of stress and anxiety (Parks et al. 1998). As consequence, the lower level of 5-HT_{1A} receptors we found in bilateral amygdala/hippocampal complex of Asperger patients might explain the symptoms of anxiety typical of autistic patients. This idea is further supported by the fact that decreased level of 5-HT_{1A} receptors in the dorsal raphe nuclei (also targeted by 5-HT_{1A} impairment in patients) predict an increase of amygdala reactivity (Fisher et al. 2006). Thus, damage of 5-HT_{1A} level in both raphe nuclei and amygdala/hippocampus complex in autistic patients might participates to amygdalar dysfunctions and consequent stress and anxiety typical of this pathology.

In support of our results, many are the evidence that link impaired activity of serotonergic system to autism. Previous literature showed that in autistic patients serotonergic activity was compromised at the level of both 5-HT_{1A} receptor and 5-HT transporter, two serotonergic components essential to preserve an optimal level of 5-HT (Barnes and Sharp 1999). This suggests that 5-HT_{1A} R damages might strongly contribute to the deregulation of serotonin synthesis in these patients. In addition, a physiological relation between the 5-HTT and 5-HT_{1A} receptors has been demonstrated, corroborating the hypothesis of impairments at both 5-HTT and 5-HT_{1A} R level. Adults knock-out mice for the 5-HTT gene displayed a lack of 5-HT_{1A} receptors, in particular in dorsal raphe nucleus and amygdala (Janusonis et al. 2006). This evidence is consistent with the 5-HT_{1A} receptors deficits we observed in Asperger patients. Moreover, a study performed in human revealed a significant positive correlation between 5-HTT and 5-HT_{1A} receptor in raphe nuclei and hippocampus (Lundberg et al. 2007). In conclusion, revealing a decrease in 5-HT_{1A} receptors in patients our results seem to be consistent with previous findings that associated 5-HTT malfunction to autism.

We suggest that typical social dysfunctions typical of autism disorders may be explained by the damage of 5-HT_{1A} receptor in regions implicated in social functioning. In general, we think that serotonergic impairment might contribute to the general dysfunction of social brain regions implicated in autism.

In the current study we tested autistic patients in the PET scan after Oxytocin and Placebo administration. In line with our previous results showing that oxytocin modulates serotonergic activity by enhancing the MPPF BP_{ND} in social brain regions (Mottolèse et al., in preparation), we hypothesized that oxytocin intake could also restore adequate levels of MPPF BP_{ND} in autistic individuals that exhibit a decrease of receptors for this radioligand. Interestingly, we found no significant difference between patients and controls after oxytocin

administration (Figure 2 A) whereas the difference remained significant after placebo administration (Figure 2 B).

Our results provide evidence in favor of OT as modulator of serotonergic activity. Previous studies showed oxytocin to be crucial in the regulation of human social behavior. Studies on manipulation of oxytocin level in autism showed improved social skills in autistic patients under the effect of oxytocin (Andari et al. 2010). Our results add to behavioral evidence and provide a neurobiological explanation for the effect of oxytocin in social behavior, suggesting that this effect results from oxytocin modulation of serotonergic system. In accordance with the fact that an increase of 5-HT_{1A} BP_{ND} in raphe nuclei reduces the amygdala reactivity (Fisher et al. 2006), our results may also explain the high level of stress and anxiety typical of autistic individuals.

In addition, we found that compared to controls patients' serotonergic system responded with lower intensity to the oxytocin administration. This represents a further prove for general impairment of serotonergic system in autistics and corroborates with 5-HT_{1A} desensitization typical of pathology related to serotonergic impairments such as depression.

Why MPPF BP_{ND} increase after oxytocin administration?

According to animal models, the augmentation of MPPF BP_{ND}, might be explained by a decrease of endogenous serotonin concentration (Zimmer et al. 2003). It is likely that oxytocin administration inhibits serotonin neurons firing through its direct action in the raphe nuclei. Since oxytocinergic system is known to be impaired in autism, we suggest that the lack of a possible retro-control action of oxytocin on serotonin participates to the serotonin dysfunction characterizing autism pathology.

Another possible explanation for the increase of MPPF BP_{ND} is that oxytocin might directly stimulate the affinity and/or the density of 5-HT_{1A} R. Indeed, 5-HT_{1A} receptors can exist in high (G-protein coupled 5-HT_{1a} receptors) and low (free 5-HT_{1a} receptors) affinity state (Gozlan et al. 1995). SSRI (inhibitor of serotonin recapture) generally used as therapeutic

treatment in autism and depression has been shown to have adverse side effects like high level of anxiety. These effects seem to be due to a down regulation of 5-HT_{1A} receptors (Fisher et al. 2006). We argue that the combined action of SSRI (inhibitor of serotonin recapture) and oxytocin which stimulate the 5-HT_{1A} receptors might be therapeutically effective and may help to avoid the negative effect of typical autism treatment such as anxiety. This interpretation is only speculative and further experimental evidence is necessary to understand the molecular mechanisms underpinning the effect of oxytocin serotonin interplay. However, our results open a new door to research to understand autism physiology and develop potential treatment for this pervasive pathology.

In summary, we provide evidence for abnormal serotonergic activity in autism spectrum disorder and we assign a crucial role to 5-HT_{1A} in the physiology of this pathology. Moreover, our findings clarify the effect of oxytocin in modulating serotonergic system and open the way for future potential treatment. Given that 5-HT_{1A} receptors dysfunction have been associated to several psychiatric pathologies such as depression, social anxiety and social phobia, our findings might be extended to all psychiatric disorders characterized by social impairments. To this aim further molecular studies are required to better understand the neural mechanisms underpinning the relationship between oxytocin and serotonin. In conclusion, our results lead to the idea that the systems of this two neurotransmitters should be taken into for future research concerning the development of therapeutic strategies in psychiatric disorders.

RECAPITULATIF DES PRINCIPAUX RESULTATS DE L'ETUDE

CHAPITRE 1 : L'OCYTOCINE EST-ELLE CAPABLE D'INFLUENCER L'ACTIVITE CENTRALE DU SYSTEME SEROTONINERGIQUE ?

Notre étude a mis en évidence une augmentation significative de MPPF BP_{ND} après ocytocine au niveau du raphé, du complexe amygdale/hippocampe droit, de l'insula antérieure droite ainsi que du cortex orbitofrontal, synonyme d'une forte modulation de l'activité sérotoninergique par l'ocytocine. L'ocytocine semble avoir inhibé l'activité des neurones sérotoninergiques conduisant à une diminution de la concentration extracellulaire de sérotonine. De plus, l'ocytocine paraît renforcer la relation entre les régions touchées par la modulation de l'activité sérotoninergique après ocytocine. L'amygdale semble alors être une région stratégique de l'interaction entre ocytocine et sérotonine. En conclusion, l'ocytocine module l'activité sérotoninergique dans des régions essentielles du comportement social. Cette relation pourrait donc tenir un rôle important dans les mécanismes neuronaux impliqués dans l'expression de notre comportement.

CHAPITRE 2 : LA RELATION ENTRE OCYTOCINE ET SEROTONINE EST-ELLE IMPLIQUEE DANS LA PATHOLOGIE DE L'AUTISME ?

Il s'agit d'une des premières études à mettre en évidence une diminution significative du potentiel de liaison des récepteurs 5-HT_{1A} de la sérotonine. Etant donné, l'importance de ces récepteurs dans les processus de développement cérébral, ce déficit pourrait faire partie intégrante de l'étiologie de l'autisme. De façon extrêmement intéressante, l'administration d'ocytocine restaure chez les patients un pattern de distribution du BP du MPPF similaire à ceux des sujets contrôles, mettant en évidence que son potentiel thérapeutique chez les patients autistes pourrait passer par une modulation de l'activité sérotoninergique et des récepteurs 5-HT_{1A}.

CONCLUSION : L'ensemble de ces résultats démontre que l'ocytocine est capable de moduler l'activité sérotoninergique et suggère que cette interaction tient un rôle crucial dans notre comportement social et par suite dans la pathologie de l'autisme. Par conséquent, cela ouvre la voie à de nouvelles pistes de recherche visant à prendre en compte cette interaction entre sérotonine et ocytocine dans le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques.

DISCUSSION GENERALE

A. RAPPEL DES PRINCIPAUX RESULTATS DE L'ETUDE

1. L'ocytocine, biomarqueur de la personnalité sociale

Le premier chapitre de notre étude a permis de mettre en évidence, premièrement une corrélation entre l'ocytocine plasmatique des individus et leur niveau d'Extraversion ((Andari et al. 2012), Chapitre 1, page 55). Ainsi, plus les sujets ont un taux d'ocytocine élevé, plus ils sont de nature extravertie ; c'est-à-dire qu'ils vont préférer passer leur temps en groupe et sont très à l'aise en société. A l'inverse des personnes de nature plus timide, privilégiant des activités solitaires auront un taux d'ocytocine plasmatique faible.

Dans la même étude, nous avons montré que le taux d'ocytocine plasmatique comme le niveau d'Extraversion des individus, étaient corrélés négativement au volume de deux régions cérébrales fortement impliquées dans le comportement social et cibles de l'action de l'ocytocine : l'amygdale et l'hippocampe. En d'autres termes, les personnes ayant un taux important d'ocytocine (et donc de nature plus extravertie) possèderaient un volume réduit du complexe amygdale/hippocampe par rapport à des individus de nature plus timide. Cette première étude nous a permis de mettre en évidence l'étroite relation entre l'ocytocine, la personnalité sociale ainsi que les structures cérébrales des individus.

Dans l'étude suivante (Partie 1, Chapitre 2, page 78), nous avons démontré que l'ocytocine était capable d'influencer la perception sociale que nous avons de nous-même. En effet, après avoir reçu de l'ocytocine les sujets reportaient un sentiment de confiance plus élevé envers les autres. Ils les perçoivent comme des individus dignes de confiance et fondamentalement bienveillants. L'ocytocine semble donc pouvoir agir en amont de notre comportement social, afin de favoriser

son expression optimale. Après oxytocine, nous serions donc mieux disposés à interagir avec autrui. De plus, cet effet de l'oxytocine sur la personnalité sociale des individus est corrélé au niveau des concentrations plasmatiques d'oxytocine des sujets. La variation des scores obtenus au NEO PI-R après oxytocine était d'autant plus importante que la concentration d'oxytocine plasmatique des individus était faible. Ceci suggère que l'oxytocine pourrait avoir une action ciblée et adaptée aux besoins des individus et suppose l'existence de mécanismes de régulation de l'action centrale de ce neurotransmetteur. Ainsi, il semble que le niveau basal d'oxytocine des individus serait à prendre en compte dans les prochaines études visant à étudier l'effet de l'oxytocine dans le comportement social.

Enfin, grâce à la réalisation de prélèvement de liquide céphalorachidien (LCR) durant une intervention neurochirurgicale, nous avons mis en évidence que les concentrations d'oxytocine plasmatique et centrale des individus étaient corrélées positivement. L'oxytocine périphérique pourrait donc être un bon indicateur des concentrations centrales circulantes d'oxytocine. De plus, nous retrouvons une corrélation positive entre les concentrations d'oxytocine plasmatiques et le niveau d'Extraversion des sujets, renforçant la significativité de nos résultats. Aussi, nous mettons en évidence l'existence de cette corrélation également au niveau central, soulignant le lien étroit entre les composantes biologiques des individus et leur comportement.

En conclusion, les résultats de cette première partie de notre travail mettent en évidence que les différences comportementales de chacun semblent être directement liées à leurs concentrations naturelles d'ocytocines ainsi qu'à l'anatomie de régions clés du comportement social. L'hormone paraît donc être à la base des mécanismes qui soutiennent l'expression de notre comportement social. L'oxytocine périphérique reflétant l'activité centrale de l'ocytocine ainsi que notre personnalité sociale pourrait donc être définie comme un biomarqueur de la personnalité sociale.

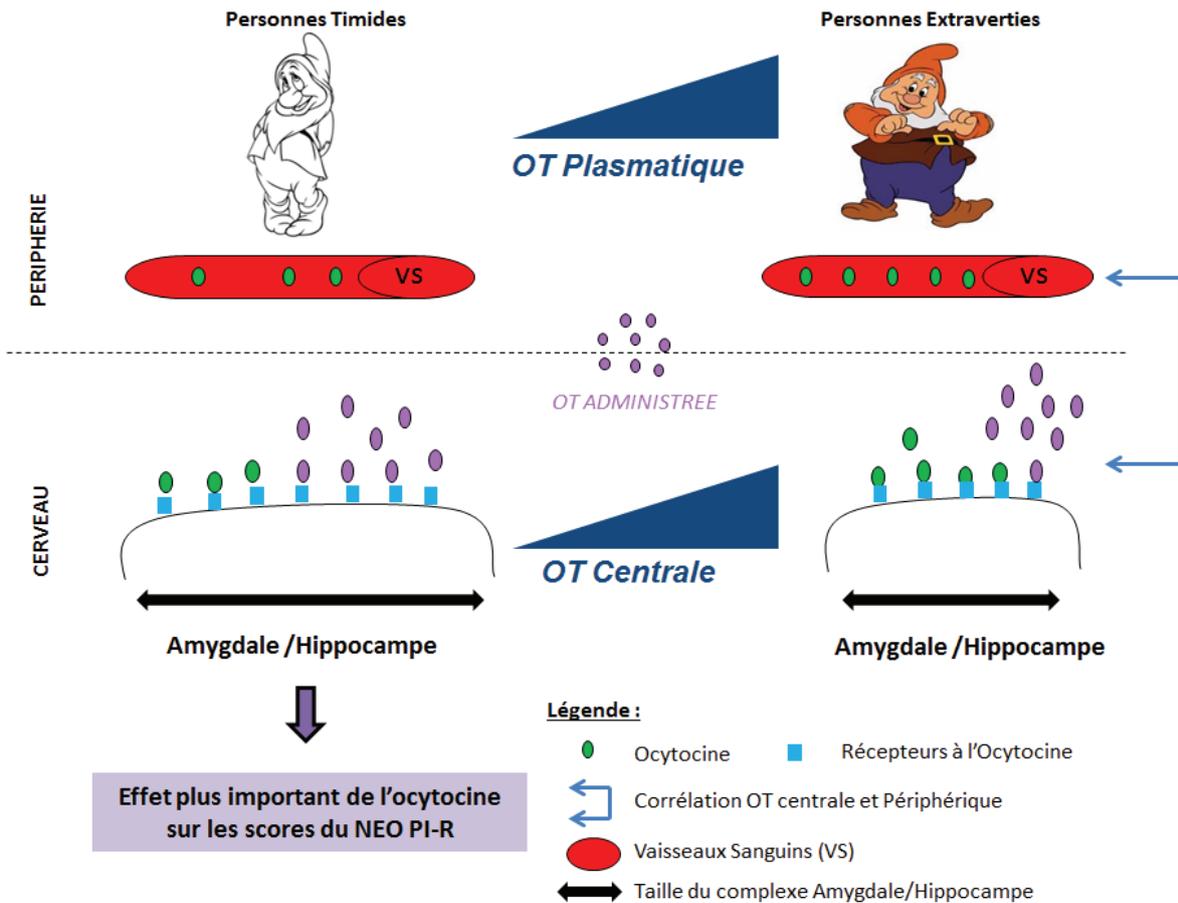


Figure 1 : Représentation schématique des résultats obtenus durant la première partie de la Thèse : Ocytocine, biomarqueur de la personnalité sociale.

La première étude de la Thèse a pu mettre en évidence que les personnes de nature Timide possédaient moins d'ocytocine plasmatique par rapport aux personnes de nature plus Extravertie. Aussi le niveau d'ocytocine plasmatique ainsi que la nature sociale des personnes étaient corrélés au volume du complexe Amygdale/Hippocampe. Ainsi les Personnes Timides possédant moins d'ocytocine plasmatique possédaient un complexe Amygdale/Hippocampe plus grand par rapport à des Personnes Extraverties.

Notre deuxième étude a mis en évidence que l'administration d'ocytocine augmentait significativement les scores obtenus au domaine Agréabilité du NEO PI-R. Pour une même dose d'ocytocine administrée, l'effet de l'ocytocine était d'autant plus important pour les personnes ayant un taux plasmatique faible d'ocytocine. L'ensemble de ces données suggèrent que l'hormone pourrait avoir une action ciblée et que les sujets possédant moins d'ocytocine pourraient être plus sensibles à l'effet produit par son administration. Ceci suppose que les individus possédant moins d'ocytocine périphérique posséderaient également une concentration centrale d'ocytocine plus faible.

La dernière étude de cette première partie en mettant en évidence l'existence d'une corrélation positive entre ocytocine périphérique et centrale semble confirmer cette hypothèse. De plus, nos résultats reproduisent la corrélation positive significative entre ocytocine et personnalité sociale au niveau périphérique et mettent en évidence que cette corrélation est transposable au niveau central.

Dans la deuxième partie de notre travail (Partie 2, page 133), nous sommes alors penchés sur l'action de l'ocytocine au niveau central et plus particulièrement sur son influence sur un autre acteur majeur de notre comportement : la sérotonine.

2. Modulation de l'activité de la sérotonine par l'ocytocine et implication dans la pathologie de l'Autisme.

Bien que l'ocytocine semble être un élément indéniable de notre comportement social, il nous semblait capital de s'intéresser à l'interaction de l'ocytocine avec un des acteurs majeurs de notre comportement social, la sérotonine.

Notre première étude chez le sujet sain (Partie 2, Chapitre 1 page 135), a mis en évidence que l'administration de l'ocytocine était capable de moduler l'activité sérotoninergique au niveau de régions essentielles de notre comportement social : le raphé, le complexe amygdale/hippocampe droit, l'insula antérieure droite, le cortex orbitofrontal droit et gauche, toutes fortement impliquées dans la régulation de notre comportement social.

Ce résultat suppose que l'ocytocine a entraîné une diminution de la concentration extracellulaire de sérotonine, probablement par une inhibition de l'activité des neurones sérotoninergiques grâce son action directement au niveau du raphé qui régule l'activité sérotoninergique centrale. Le récepteur 5-HT_{1A} de la sérotonine jouant un rôle clé dans la régulation de l'activité des neurones sérotoninergiques, nous supposons que l'ocytocine pourrait agir directement sur ce récepteur en modulant son affinité et/ou sa densité.

Dans ce sens, nous avons mis en évidence, une corrélation après ocytocine entre le potentiel de liaison (BP) du MPPF du raphé et de l'amygdale. A son tour, le BP du MPPF de l'amygdale était corrélé avec celui de l'hippocampe, de l'insula et du cortex orbitofrontal, suggérant que l'amygdale pourrait être une région stratégique de l'interaction entre ocytocine et sérotonine.

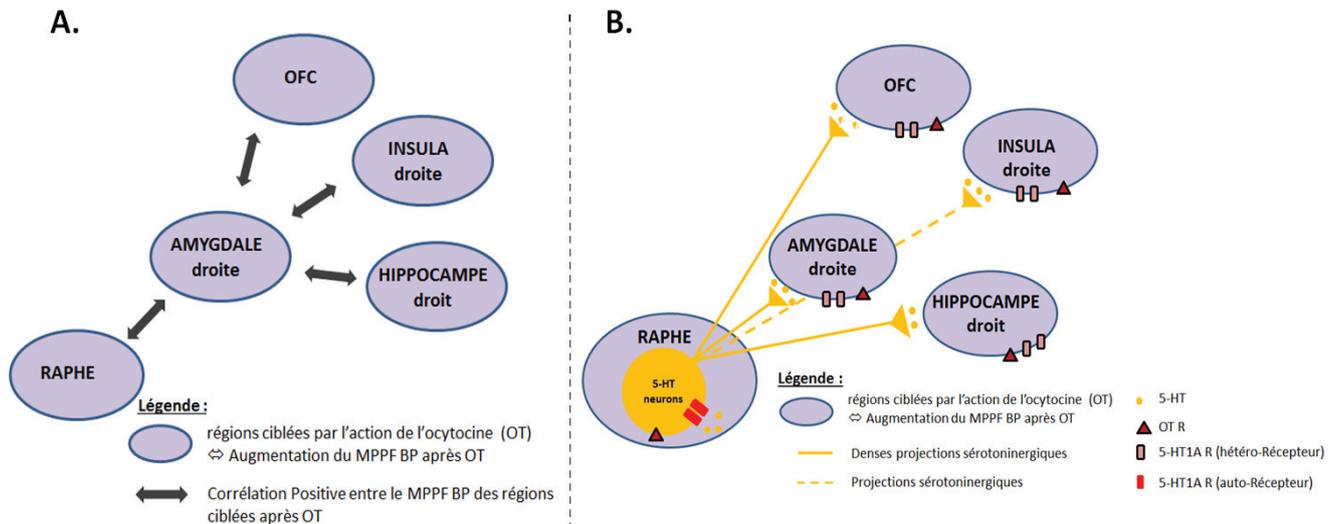


Figure 2 : Représentation Schématique de l'effet de l'administration de l'ocytocine sur le système sérotoninergique chez le sujet sain.

A. Représentation schématique des résultats obtenus. Notre étude a mis en évidence une augmentation significative du MPPF BP_{ND} après ocytocine au niveau du Raphe, du complexe Amygdale/Hippocampe droit, de l'Insula droite ainsi qu'au niveau du Cortex Orbito-Frontal (OFC). Après Ocytocine, le MPPF BP_{ND} du Raphe est positivement corrélé avec le MPPF BP_{ND} de l'Amygdale qui à son tour corrèle positivement (toujours après ocytocine) avec respectivement le MPPF BP_{ND} de l'Hippocampe droit, de l'Insula droite et de l'OFC. L'Amygdale semble donc être une région stratégique de la relation ocytocine/sérotonine. **B. Représentation schématique du système sérotoninergique touché par l'administration d'ocytocine.** Les neurones sérotoninergiques localisés dans le raphé et qui portent les récepteurs 5-HT_{1A} (auto-R dans le Raphé), projettent leurs fibres sérotoninergiques vers différentes régions cérébrales notamment l'Amygdale, l'Hippocampe, l'Insula ainsi que l'OFC où elles vont libérer la sérotonine. Dans ces régions sont aussi localisés des récepteurs 5-HT_{1A} (qualifiés d'hétéro-récepteur dans les zones de projections) ainsi que les récepteurs de l'OT suggérant l'importance de la relation entre ces deux neurotransmetteurs dans le fonctionnement de ces régions clés du comportement. Les récepteur 5-HT_{1A} localisés dans le raphé régulent l'activité des neurones sérotoninergiques. Lorsqu'ils sont activés cela entraîne une inhibition de l'activité de ces neurones ce qui conduit à une diminution de la sécrétion de sérotonine dans les zones de projections pouvant expliquer l'augmentation du MPPF BP_{ND} visible après OT. Nous pouvons faire l'hypothèse qu'au niveau du Raphe l'OT pourrait agir directement au niveau du récepteur 5-HT_{1A}. L'OT pourrait donc agir à la racine de l'activité sérotoninergique. Bien que les mécanismes neuronaux ne puissent être clairement définis, ces deux neurotransmetteurs ainsi que les régions ciblées par l'action de l'OT étant cruciaux pour notre sociabilité, cela souligne l'importance de la relation entre ocytocine et sérotonine dans l'expression d'un comportement adapté.

Bien qu'il soit difficile de déterminer clairement les mécanismes neuronaux et moléculaires sous-jacent, cette première étude démontre clairement que l'action centrale de l'ocytocine module l'activité du système sérotoninergique dans des régions essentielles de notre comportement. Ces résultats suggèrent que cette interaction entre deux principaux neurotransmetteurs de notre comportement pourrait tenir un rôle majeur dans notre comportement social et les pathologies sociales associés. Il nous semblait ainsi crucial d'étudier cette relation dans le cadre de la pathologie de l'autisme.

Notre étude réalisée chez quatorze patients Asperger et Autiste de Haut Niveau, a mis en évidence une diminution du potentiel de liaison du MPPF BP chez les patients par rapport aux sujets sains et cela au niveau de régions essentielles à comportement social et de la relation entre ocytocine et sérotonine (cf, Partie 2, Chapitre 1, page 135) : le raphé, le complexe amygdale/hippocampe droit et gauche ainsi que l'insula droite et gauche. A notre connaissance, il s'agit d'une des premières études qui met en évidence un déficit des récepteurs 5-HT_{1A} de la sérotonine chez le patient autiste. L'administration d'ocytocine supprime cette différence de BP entre patients et les sujets sains. Ainsi, il semble que grâce à sa capacité à moduler l'activité l'activité sérotoninergique, l'ocytocine restaure chez le patient un pattern de fixation du MPPF BP similaire à celui des individus contrôles. Cela confirme que l'interaction entre ocytocine et sérotonine est impliquée dans notre comportement social et donc les pathologies qui en découlent et suggère que que l'action thérapeutique de l'ocytocine pourrait passer en partie par son action sur le système sérotoninergique.

Par conséquent, la relation entre ocytocine et sérotonine semble tenir une place importante dans le fonctionnement du « *cerveau social* » et dans la pathologie de l'autisme. Ces données ouvrent donc la voie à de nouvelles pistes de recherche devant prendre en compte l'interaction entre ces deux neurotransmetteurs.

B. INTERETS DE L'ENSEMBLE DU PROJET

1. Intérêts scientifiques du projet

L'ensemble de ce travail a permis d'apporter de nouvelles connaissances biologiques et physiologiques sur le système ocytocinergique.

En plus d'avoir démontré l'étroite relation entre l'ocytocine et notre personnalité sociale, nous avons mis en évidence pour la première fois l'existence d'une corrélation possible entre l'ocytocine plasmatique et centrale, postulat sur lequel repose la grande majorité des études comportementales de l'ocytocine. Aussi, lors de ce projet et bien que ces résultats soient préliminaires, nous avons utilisé une technique alternative à la ponction lombaire fournissant des résultats prometteurs et ouvrant la voie à d'autres études utilisant cette même méthode pour étudier la relation entre ocytocine centrale et périphérique.

Egalement, cette étude physiologique de l'ocytocine, nous a permis de mettre en évidence l'importance de la concentration propre à chacun d'ocytocine dans le comportement social des individus, suggérant ainsi que le design des futures études à ce sujet devront en tenir compte, ce qui n'est généralement pas le cas pour le moment. La plupart des études autour de l'effet de l'ocytocine, utilisent des protocoles en double aveugle ou les patients sont soit i) divisés en deux groupes dont l'un reçoit de l'ocytocine, l'autre du placebo ou ii) soit leur propre contrôle et reçoivent donc une fois l'ocytocine et une fois le placebo (pour une revue se référer à (Bartz et al. 2011)). Aucun de ces dispositifs ne traduit l'effet de l'ocytocine par rapport à l'état basal des sujets et donc à leurs performances correspondantes. Les résultats observés ne refléteraient donc peut-être pas strictement l'effet de l'administration de l'ocytocine.

Enfin, la deuxième partie de notre travail est une façon originale et innovante d'étudier l'action centrale de l'ocytocine chez l'homme. Elle a ainsi mis en lumière un vaste réseau d'action de l'ocytocine au niveau central et pour la première fois chez l'homme la capacité de l'hormone à influencer l'activité d'un autre neurotransmetteur. Ainsi, l'utilisation des techniques d'imagerie nucléaire et de l'interaction de l'ocytocine avec d'autres neurotransmetteurs semblent être des nouvelles techniques d'investigation prometteuses du fonctionnement cérébral de l'ocytocine, dans l'attente du développement de son propre ligand. Par conséquent, l'ensemble de ce travail présente également un important intérêt thérapeutique.

2. Intérêts cliniques et thérapeutiques : l'ocytocine du diagnostic au traitement de l'autisme.

Utilisation de l'ocytocine dans le diagnostic de l'Autisme grâce à son rôle de biomarqueur

Si la plupart des études de ces dernières années relatives à l'implication de l'ocytocine dans la pathologie de l'autisme ont mis en évidence son potentiel thérapeutique, nous faisons l'hypothèse, d'après les résultats de la première partie de notre travail que l'ocytocine pourrait jouer un rôle dans le diagnostic de l'autisme et donc dans sa prise en charge.

Ce travail a, dans un premier temps, déterminé le rôle capital de l'ocytocine dans notre comportement social. Le lien étroit entre la concentration de l'hormone et la personnalité sociale (tant au niveau central que périphérique) ainsi qu'avec les structures cérébrales impliquées suggèrent que l'ocytocine pourrait être un véritable bio marqueur de la personnalité sociale. Bien que des études à plus grande échelle soient nécessaires, il semblerait que le niveau d'ocytocine plasmatique des sujets puisse être ainsi représentatif de leur niveau de sociabilité.

Les études ayant déjà montré que le niveau d'ocytocine plasmatique de personnes touchées par le syndrome d'Asperger serait inférieur à ceux des sujets sains (Andari et al. 2010; Modahl et

al. 1998), à plus long terme l'utilisation de l'ocytocine dans le diagnostic précoce de l'autisme pourrait être envisagée.

Par conséquent, il serait intéressant de mener des études de larges envergures, visant à évaluer chez de jeunes enfants le niveau d'ocytocine plasmatique afin d'établir une concentration « critique » de l'ocytocine en dessous de laquelle les enfants présentent un risque de développer par la suite un syndrome autistique. Ceci afin de faciliter le diagnostic et la prise en charge des patients. Cela pourrait être d'autant plus intéressant pour les pathologies moins sévères du spectre autistique comme le syndrome d'Asperger encore mal connu et généralement diagnostiqué plus tardivement. De plus, faciliter le diagnostic c'est aussi faciliter la prise en charge des patients.

L'idéal serait de se placer en amont du diagnostic d'autisme établi généralement autour de trois ans et d'étudier une relation entre un taux d'ocytocine et le pourcentage de chance correspondant de développer la pathologie. Si l'ocytocine seule ne pourrait déterminer le diagnostic, elle pourrait l'affirmer ou l'infirmer dans le cas de patients pour lesquelles le diagnostic n'est pas évident.

La première partie de notre travail suggère que l'ocytocine par son rôle de biomarqueur pourrait être utilisée dans le diagnostic de l'autisme. La deuxième partie cible quant à elle son intérêt thérapeutique.

Interaction entre ocytocine et sérotonine, nouvelle stratégie thérapeutique ?

La deuxième partie de notre travail met en évidence la capacité de l'ocytocine à moduler l'activité du système sérotoninergique.

L'ocytocine serait ainsi capable de moduler la sécrétion de sérotonine. Ceci est d'autant plus intéressant qu'un des symptômes empiriques de l'autisme est la dérégulation du système

sérotoninergique. Le système ocytocinergique étant déficient chez ces patients nous faisons l'hypothèse que l'absence de régulation de l'activité du système sérotoninergique par l'ocytocine pourrait être en partie responsable du dysfonctionnement sérotoninergique caractéristique de l'autisme.

L'intérêt de l'effet de l'ocytocine sur la sérotonine par l'intermédiaire des récepteurs 5-HT_{1A} est renforcé par le fait que ces récepteurs sont essentiels à l'expression d'un comportement social adapté. Ainsi, des souris KO pour le gène codant ce récepteur démontrent une dérégulation du système sérotoninergique couplée à un comportement social déficient, symptômes similaires à ceux de l'autisme (Klemenhagen et al. 2006).

Ainsi, les inhibiteurs de la recapture sérotoninergique (SSRI) prescrits dans le cadre de l'autisme mais aussi de la dépression, sont généralement accompagnés d'effets secondaires pouvant être liés à une désensibilisation des récepteurs 5-HT_{1A} menant ainsi notamment à une augmentation de l'anxiété. Par conséquent, si l'ocytocine est capable de stimuler ce récepteur, combiner les traitements connus ciblant le système sérotoninergique à un traitement basé sur l'ocytocine permettrait de contrôler voir d'éliminer ces effets néfastes. Ceci est d'autant plus intéressant que l'administration d'ocytocine semble capable de contre balancer le déficit au niveau des récepteurs 5-HT_{1A} des patients Asperger.

S'il nous est impossible d'établir clairement les mécanismes neuronaux et moléculaires qui sous-tendent cette interaction, nous espérons que ces résultats mèneront à de nouvelles pistes de recherche dans le cadre du développement de stratégies thérapeutiques visant à prendre en compte l'interaction entre ces deux neurotransmetteurs.

Ces données sont prometteuses si l'on considère que la dérégulation du système sérotoninergique et des récepteurs 5-HT_{1A} ne sont pas des symptômes spécifiques de l'autisme

mais caractérisant également d'autres pathologies comme la dépression ou encore l'anxiété sociale.

C. LIMITES DE L'ETUDE

1. Nombres de sujets

Etude physiologique

Au cours de la première partie de ce travail, nous avons mis en évidence pour la première fois une corrélation entre ocytocine centrale et périphérique chez seize patients neurochirurgicaux. Si dans le cadre de cette étude, nous avons reproduit des résultats obtenus précédemment notamment la relation entre ocytocine plasmatique et extraversion, confortant la cohérence et la solidité de ces résultats, ces derniers restent préliminaires. Ces données encourageantes nécessiteront la réalisation d'études supplémentaires à plus grande échelle afin de confirmer ces résultats et de développer cette nouvelle approche du système ocytocinergique qui semble pouvoir être source de nouvelles connaissances. Néanmoins, le fait de retrouver des corrélations significatives sur de petits échantillons renforce la solidité de nos données. Cependant le recrutement des patients est rendu difficile notamment de par nos critères de sélection et du fait que les prélèvements de LCR puissent être réalisables lors de la chirurgie.

L'étude visant à étudier l'effet de l'ocytocine sur les scores du NEO Pi-R nécessiterait aussi d'augmenter la taille de ces échantillons notamment afin de vérifier la relation entre l'effet de l'ocytocine en fonction des concentrations physiologiques des individus.

Etude d'imagerie en TEP

Egalement dans le cadre de l'étude en TEP, l'idéal serait d'augmenter la taille des échantillons afin d'atteindre quinze à vingt sujets par groupe ocytocine et placebo soit trente à quarante sujets au total. Des groupes d'une telle taille sont rares dans la littérature principalement à cause du coût de ces examens d'imagerie. Ainsi avec l'inclusion de vingt sujets sains nous sommes dans la moyenne haute du nombre de sujets inclus dans les études de TEP. De plus, étant donné l'importance de l'effet de l'ocytocine trouvé, nous sommes en mesure de défendre la validité et la solidité de ces résultats.

Egalement, le groupe de quatorze patients constitue déjà un échantillon conséquent. De plus, le recrutement des patients est d'autant plus difficile que nous incluons dans cette étude uniquement des personnes sans traitement. Néanmoins, étant donné les résultats prometteurs obtenus sur ces quatorze patients, nous envisageons de compléter notre étude en rajoutant six patients afin d'avoir dix patients dans les groupes ocytocines et placebo, soit un total de vingt patients.

2. Difficultés techniques et méthodologiques

La recherche chez l'homme bénéficie de moins de moyens d'investigations que les recherches chez l'animal. Aussi, la difficulté d'accès à l'ocytocine centrale nous oblige à utiliser des méthodes détournées ne reflétant pas nécessairement la physiologie des systèmes à l'état basal.

C'est le cas de notre étude sur les concentrations d'ocytocine dans le Liquide Céphalo Rachidien (LCR). Ainsi, les prélèvements du LCR sont réalisés lors d'une intervention chirurgicale, situation de stress inhabituelle pour l'organisme et dont l'acte en lui-même témoigne d'un système central altéré. Si, nous avons pris soins de contrôler tous ces paramètres, il n'en reste pas moins que les conditions de prélèvement sont différentes de celles d'un organisme à l'état basal. Dans les prochains protocoles à venir nous pourrions ajouter des

prélèvements avant le début de l'intervention et l'anesthésie afin de pouvoir établir une ligne de base et évaluer la variation de concentration d'ocytocine suite à l'anesthésie au moins au niveau périphérique. Un autre dosage après la chirurgie pourrait compléter ces résultats. L'idéal serait de monitorer les variations d'ocytocine comme cela a précédemment été fait pour le cortisol (A. T. Aggo, Fyनेface-Ogan, and Mato 2012). Néanmoins, des protocoles fixes et encadrés sont difficiles à mettre en place dans le cadre d'interventions chirurgicales afin de ne pas gêner le bon déroulement de l'intervention et le fonctionnement des équipes de chirurgie et d'anesthésie. Il est aussi délicat de demander aux patients de subir d'autres prélèvements et examens en plus de ceux préalablement subis à cause de leur pathologie.

Egalement, la technique de dosage par Enzyme Immuno Assay (ELISA) a été soumise récemment à de vives critiques quant à sa capacité à mesurer les concentrations d'ocytocine (McCullough, Churchland, and Mendez 2013). Une autre étude suggère ainsi que la technique de dosage ELISA, que nous avons utilisée, prendrait en compte dans sa mesure les produits de dégradation de l'ocytocine biaisant les valeurs des concentrations obtenues (Angela Szeto et al. 2011). Néanmoins, malgré l'absence de ce protocole, nous avons reproduit les résultats obtenus dans notre première étude (Andari et al. 2012a) et en accord avec la littérature concernant la relation entre ocytocine et vasopressine (Wotjak et al. 1998), ce qui conforte les données trouvées et la méthode utilisée. Cependant par soucis de précision et de justesse, les échantillons de cette étude seront dosés de nouveaux en utilisant le protocole d'extraction de Péqueux (Péqueux et al. 2001), utilisé dans l'étude précédente (Andari et al. 2012; Partie 1, chapitre 1). Cela, nous permettra d'affiner nos résultats ainsi que de vérifier la validité de la méthode de dosage utilisée.

Etude d'imagerie en TEP

Nous sommes aussi confrontés à quelques difficultés méthodologiques lors de l'étude TEP. En effet, si l'interaction entre ocytocine et sérotonine semble ici avérée, il est difficile de donner des mécanismes cellulaires précis régissant l'interaction entre ocytocine et sérotonine. Des études moléculaires et histologiques chez l'animal seront donc nécessaires pour comprendre toute la neurobiologie de cette interaction. De plus, étant donné la complexité de ces deux systèmes ocytocinergique et sérotoninergique, nous visualisons à travers le récepteur 5-HT_{1A} certainement qu'une partie du phénomène.

Aussi dans notre étude les sujets sont au repos. Si l'administration d'ocytocine sur le « default mode » (caractéristique de l'activité du cerveau au repos) ne semble pas activer les régions touchées ici, mais plutôt des régions du cortex frontal (Sripada et al. 2012), il serait intéressant d'étudier cette relation en situation d'interaction sociale. Nous pouvons faire l'hypothèse que l'effet de l'ocytocine sur la sérotonine pourrait être différent en fonction de la situation, en ciblant son effet sur les régions impliquées dans la tâche sociale.

Egalement, il aurait été intéressant d'établir une cinétique de l'ocytocine sur les variations du BP du MPPF au niveau central dans sa globalité et/ou spécifiquement par régions. Cependant, le radiotracer [18-F]MPPF ne permet pas de réaliser une telle analyse. Néanmoins, l'équipe de Yoshida, ayant montré chez le rat, que l'administration d'ocytocine stimulait le système sérotoninergique durant environ quatre-vingts dix minutes de façon stable et continue (Yoshida et al. 2009), nous pouvons supposer que l'effet de l'administration de l'ocytocine sur la sérotonine est un effet stable et durable dans le temps.

Malgré ces limites qui incombent à tout protocole de recherche, nos résultats soulignent le potentiel de l'utilisation de l'ocytocine dans le cadre de troubles psychiatriques tant au

niveau diagnostique que thérapeutique et ouvrent la porte à de nombreuses perspectives de recherche.

D. PERSPECTIVES DU PROJET

Dans un premier temps, des études moléculaires chez l'animal semblent nécessaires pour mieux comprendre les mécanismes qui sous-tendent l'interaction entre l'ocytocine et la sérotonine (que nous avons étudiée ici).

1. Etudes complémentaires visant à mieux comprendre l'interaction entre ocytocine et sérotonine

Si nos résultats mettent clairement en évidence l'interaction entre ces deux neurotransmetteurs, des études supplémentaires semblent indispensables pour comprendre la mécanistique de cette interaction.

Une première étude intéressante et réalisable chez l'homme serait de tester l'effet de l'ocytocine sur le transporteur 5-HTT de la sérotonine, également par TEP en utilisant le radiotracer prévu à cet effet. Ceci serait d'autant plus intéressant que la plupart des études sur l'implication de la sérotonine dans la pathologie de l'autisme par TEP ont utilisé un radiotracer spécifique de ce transporteur (Nakamura et al. 2010). Le transporteur se retrouvant sur l'ensemble des fibres sérotoninergique, cela nous permettrait d'avoir une vision globale de l'effet de l'ocytocine sur le système sérotoninergique de notre cerveau. De plus, cela apporterait des éléments de réponses quant aux mécanismes entraînant les effets de l'ocytocine sur la sérotonine. En effet, il est possible que l'action de l'ocytocine puisse aussi passer en partie par une action locale au niveau sur l'activité du transporteur de la sérotonine.

Toutefois, des études animales et moléculaires semblent indispensables et nécessaires. Il serait en effet intéressant de savoir si des souris KO pour les récepteurs à l'ocytocine et/ou l'ocytocine elle-même présentent des déficits au niveau des récepteurs 5-HT_{1A}. Afin de savoir si l'effet de l'ocytocine passe par une stimulation de ces récepteurs, il faudrait définir par exemple si l'effet anxiolytique de l'ocytocine pourrait être inhibé ou réduit par l'administration d'un antagoniste des récepteurs 5-HT_{1A} de la sérotonine. En effet, des études visant à déterminer si l'effet d'ocytocine sur la sérotonine passe par une stimulation directe de la densité et/ou l'affinité du récepteur 5-HT_{1A} semble indispensables.

Etant donné nos résultats obtenus sur la sérotonine et les données existantes dans la littérature, nous pensons que l'ocytocine pourrait se placer comme véritable chef d'orchestre de l'activité des neuromodulateurs du comportement. Une perspective concrète de ce projet sera donc l'étude de l'interaction entre ocytocine et dopamine

2. Ocytocine, sérotonine, dopamine, les dessous du comportement social

Etant donné, l'étendue de l'influence de l'ocytocine sur le système sérotoninergique, nous sommes en mesure de penser que l'ocytocine pourrait jouer un rôle régulateur de l'activité des neurotransmetteurs impliqués dans le comportement social. Ainsi, l'ocytocine a souvent été associée à l'action parallèle d'un autre neuropeptide qui lui est proche : la Vasopressine (pour des revues à ce sujet se référer à (Stoop 2012b; T R Insel, O'Brien, and Leckman 1999; Landgraf and Neumann 2004a). Combinés à nos résultats ceci met en évidence la capacité de l'ocytocine à pouvoir interagir avec d'autres neuromodulateurs du comportement social.

Ainsi, nous faisons l'hypothèse que l'influence de l'ocytocine sur les molécules cérébrales serait bien plus vaste et toucherait aussi l'activité d'un autre acteur du comportement social : la

dopamine. En effet, la stimulation centrale des voies dopaminergique et ocytocinergique sont connues pour avoir des effets similaires sur certains aspects des comportements sociaux et d'affiliation comme le comportement sexuel ou la formation des couples (Baskerville and Douglas 2010). De plus, les récepteurs ocytocinergiques et dopaminergiques sont co-localisés dans certaines régions cérébrales (Skuse and Gallagher 2009). Ceci est d'autant plus intéressant que le fonctionnement des systèmes sérotoninergique et dopaminergique semble également être étroitement liés dans la régulation de notre comportement (Kaye et al. 2013). Ainsi, ocytocine et dopamine sont toutes deux impliquées dans la pathologie de l'autisme (Nakamura et al. 2010).

Cette nouvelle phase d'investigation ferait directement suite à ce projet. De la même manière que pour la sérotonine, nous envisageons d'étudier l'effet de l'ocytocine sur le système dopaminergique grâce à une étude en TEP utilisant le raclopride radiotraceur des récepteurs D₂ de la dopamine. La combinaison de ces deux études nous permettra d'établir une véritable cartographie des principaux neurotransmetteurs impliqués dans le fonctionnement de notre cerveau social.

Nous pensons que l'ocytocine pourrait agir comme un véritable régulateur de l'action des neuromodulateurs, visant à obtenir un niveau de fonctionnement optimal de l'activité cérébrale.

F. CONCLUSION

Pour conclure, l'ensemble de ce travail a permis d'acquérir de nouvelles connaissances sur le système ocytocinergique et son importance au niveau de notre comportement social. Ainsi l'ocytocine serait inscrite dans la physiologie des individus déterminant l'expression de leur comportement. Nos résultats suggèrent que l'ocytocine pourrait ainsi être considérée comme un biomarqueur du comportement social et à plus long terme servir au diagnostic et à la prise en charge de l'autisme. Ces résultats illustrent l'idée que l'ocytocine pourrait être le neurotransmetteur caractéristique du cerveau social. Nous pouvons ainsi faire l'hypothèse que, bien qu'étant un des peptides les plus conservés présent jusque chez les invertébrés, l'ocytocine pourrait avoir évolué et gagnée en spécificité afin de pouvoir s'adapter aux mécanismes neuronaux régissant le fonctionnement du cerveau social de l'homme. Si, l'ocytocine est indéniablement un acteur majeur du comportement social, son action sur ce dernier semble passer par l'intermédiaire de son effet sur d'autres neurotransmetteurs notamment la sérotonine. La relation entre ces deux neurotransmetteurs semble être indispensable au comportement social et donc tenir un rôle majeur dans la pathologie de l'autisme. Par conséquent, nous espérons que ces résultats ouvriront d'importantes perspectives de recherche dans le cadre de développement de nouveaux traitements pour les pathologies psychiatriques prenant en compte l'interaction entre l'ocytocine avec les autres neurotransmetteurs du comportement.

BIBLIOGRAPHIE

- Adolphs, R. 2001. "The neurobiology of social cognition." *Current opinion in neurobiology* 11 (2) (April): 231–239.
- . 2002. "Recognizing Emotion from Facial Expressions: Psychological and Neurological Mechanisms." *Behavioral and Cognitive Neuroscience Reviews* 1 (1): 21–62.
- Adolphs, Ralph. 2003a. "Is the Human Amygdala Specialized for Processing Social Information?" *Annals of the New York Academy of Sciences* 985 (1): 326–340. doi:10.1111/j.1749-6632.2003.tb07091.x.
- . 2003b. "Cognitive neuroscience of human social behaviour." *Nature reviews. Neuroscience* 4 (3) (March): 165–178. doi:10.1038/nrn1056.
- . 2009. "The Social Brain: Neural Basis of Social Knowledge." *Annual Review of Psychology* 60: 693–716. doi:10.1146/annurev.psych.60.110707.163514.
- Aggo, At, Cn Mato, and S Fyeface-Ogan. 2012. "The Differential Impact of Two Anesthetic Techniques on Cortisol Levels in Nigerian Surgical Patients." *Nigerian Journal of Clinical Practice* 15 (1): 68. doi:10.4103/1119-3077.94102.
- Aghajanian, George, and Elaine Sanders-Bush. 2002. "Serotonin." In *Neuropsychopharmacology: The Fifth Generation of Progress*, edited by Kenneth Davis, Dennis Charney, Joseph Coyle, and Charles Nemeroff, 15–34. Lippincott Williams & Wilkins. http://www.acnp.org/Docs/G5/CH2_15-34.pdf.
- Altemus, Margaret, Jill Fong, Ruirong Yang, Shari Damast, Victoria Luine, and Deveroux Ferguson. 2004. "Changes in Cerebrospinal Fluid Neurochemistry During Pregnancy." *Biological Psychiatry* 56 (6) (September 15): 386–392. doi:10.1016/j.biopsych.2004.06.002.
- Amico, J A, R Tenicela, J Johnston, and A G Robinson. 1983. "A Time-dependent Peak of Oxytocin Exists in Cerebrospinal Fluid but Not in Plasma of Humans." *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 57 (5) (November): 947–951.
- Andari, Elissar, Jean-René Duhamel, Tiziana Zalla, Evelyn Herbrecht, Marion Leboyer, and Angela Sirigu. 2010. "Promoting Social Behavior with Oxytocin in High-functioning Autism Spectrum Disorders." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107 (9) (March 2): 4389–4394. doi:10.1073/pnas.0910249107.
- Andari, Elissar, Fabien C Schneider, Raphaëlle Mottolese, Philippe Vindras, and Angela Sirigu. 2012a. "Oxytocin's Fingerprint in Personality Traits and Regional Brain Volume." *Cerebral Cortex (New York, N.Y.: 1991)* (November 1). doi:10.1093/cercor/bhs328.
- Anderberg, U M, and K Uvnäs-Moberg. 2000. "Plasma Oxytocin Levels in Female Fibromyalgia Syndrome Patients." *Zeitschrift Für Rheumatologie* 59 (6) (December): 373–379.
- Anderson, S W, A Bechara, H Damasio, D Tranel, and a R Damasio. 1999. "Impairment of Social and Moral Behavior Related to Early Damage in Human Prefrontal Cortex." *Nature Neuroscience* 2 (11) (November): 1032–7.
- Anstey, Michael L, Stephen M Rogers, Swidbert R Ott, Malcolm Burrows, and Stephen J Simpson. 2009. "Serotonin mediates behavioral gregarization underlying swarm formation in desert

- locusts.” *Science (New York, N.Y.)* 323 (5914) (January 30): 627–630. doi:10.1126/science.1165939.
- Arletti, Rossana, and Alfio Bertolini. 1987. “Oxytocin Acts as an Antidepressant in Two Animal Models of Depression.” *Life Sciences* 41 (14) (October 5): 1725–1730. doi:10.1016/0024-3205(87)90600-X.
- Association, American Psychiatric. 2000. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition: DSM-IV-TR®*. American Psychiatric Pub.
- Averill, J R. 1983. “Studies on Anger and Aggression. Implications for Theories of Emotion.” *The American Psychologist* 38 (11) (November): 1145–60.
- Aznavour, Nicolas, and Luc Zimmer. 2007. “[18F]MPPF as a Tool for the in Vivo Imaging of 5-HT1A Receptors in Animal and Human Brain.” *Neuropharmacology* 52 (3) (March): 695–707. doi:10.1016/j.neuropharm.2006.09.023.
- Bar-Haim, Yair, Dominique Lamy, Lee Pergamin, Marian J Bakermans-Kranenburg, and Marinus H Van IJzendoorn. 2007. “Threat-related Attentional Bias in Anxious and Nonanxious Individuals: a Meta-analytic Study.” *Psychological Bulletin* 133 (1) (January): 1–24.
- Barnes, N M, and T Sharp. 1999. “A review of central 5-HT receptors and their function.” *Neuropharmacology* 38 (8) (August): 1083–1152.
- Baron-Cohen, S, S Wheelwright, J Hill, Y Raste, and I Plumb. 2001. “The ‘Reading the Mind in the Eyes’ Test revised version: a study with normal adults, and adults with Asperger syndrome or high-functioning autism.” *Journal of child psychology and psychiatry, and allied disciplines* 42 (2) (February): 241–251.
- Baron-Cohen, S., H.A. Ring, E.T. Bullmore, S. Wheelwright, C. Ashwin, and S.C.R. Williams. 2000. “The Amygdala Theory of Autism.” *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 24 (3) (May): 355–364. doi:10.1016/S0149-7634(00)00011-7.
- Le Bars, D, C Lemaire, N Ginovart, A Plenevaux, J Aerts, C Brihay, W Hassoun, et al. 1998. “High-yield radiosynthesis and preliminary in vivo evaluation of p-[18F]MPPF, a fluoro analog of WAY-100635.” *Nuclear medicine and biology* 25 (4) (May): 343–350.
- Bartz, Jennifer A, and Eric Hollander. 2006. “The neuroscience of affiliation: forging links between basic and clinical research on neuropeptides and social behavior.” *Hormones and behavior* 50 (4) (November): 518–528. doi:10.1016/j.yhbeh.2006.06.018.
- . 2008. “Oxytocin and experimental therapeutics in autism spectrum disorders.” *Progress in brain research* 170: 451–462. doi:10.1016/S0079-6123(08)00435-4.
- Bartz, Jennifer A, Jamil Zaki, Niall Bolger, and Kevin N Ochsner. 2011. “Social effects of oxytocin in humans: context and person matter.” *Trends in cognitive sciences* 15 (7) (July): 301–309. doi:10.1016/j.tics.2011.05.002.
- Baskerville, Tracey A, and Alison J Douglas. 2010. “Dopamine and oxytocin interactions underlying behaviors: potential contributions to behavioral disorders.” *CNS neuroscience & therapeutics* 16 (3) (June): e92–123. doi:10.1111/j.1755-5949.2010.00154.x.
- Baumgartner, Thomas, Markus Heinrichs, Aline Vonlanthen, Urs Fischbacher, and Ernst Fehr. 2008. “Oxytocin shapes the neural circuitry of trust and trust adaptation in humans.” *Neuron* 58 (4) (May 22): 639–650. doi:10.1016/j.neuron.2008.04.009.

- Bealer, Steven L., William E. Armstrong, and William R. Crowley. 2010. "Oxytocin Release in Magnocellular Nuclei: Neurochemical Mediators and Functional Significance During Gestation." *American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 299 (2) (August 1): R452–R458. doi:10.1152/ajpregu.00217.2010.
- Van Beest, Ilja, and Kipling D Williams. 2006. "When inclusion costs and ostracism pays, ostracism still hurts." *Journal of personality and social psychology* 91 (5) (November): 918–928. doi:10.1037/0022-3514.91.5.918.
- Bertsch, Katja, Ilinca Schmidinger, Inga D. Neumann, and Sabine C. Herpertz. 2013. "Reduced Plasma Oxytocin Levels in Female Patients with Borderline Personality Disorder." *Hormones and Behavior* (0). doi:10.1016/j.yhbeh.2012.11.013. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0018506X12002851>.
- Best, Mary, J Michael Williams, and Emil F Coccaro. 2002. "Evidence for a Dysfunctional Prefrontal Circuit in Patients with an Impulsive Aggressive Disorder." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99 (12) (June 11): 8448–53.
- Blair, R J. 1995. "A Cognitive Developmental Approach to Mortality: Investigating the Psychopath." *Cognition* 57 (1) (October): 1–29.
- . 2001. "Neurocognitive Models of Aggression, the Antisocial Personality Disorders, and Psychopathy." *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry* 71 (6) (December): 727–31.
- Blair, R J R. 2010. "Neuroimaging of Psychopathy and Antisocial Behavior: a Targeted Review." *Current Psychiatry Reports* 12 (1) (February): 76–82.
- Boccia, Maria L, Anne-Pierre S Goursaud, Jocelyne Bachevalier, Kenneth D Anderson, and Cort A Pedersen. 2007. "Peripherally Administered Non-peptide Oxytocin Antagonist, L368,899, Accumulates in Limbic Brain Areas: a New Pharmacological Tool for the Study of Social Motivation in Non-human Primates." *Hormones and Behavior* 52 (3) (September): 344–351. doi:10.1016/j.yhbeh.2007.05.009.
- Bonvento, G, B Scatton, Y Claustre, and L Rouquier. 1992. "Effect of Local Injection of 8-OH-DPAT into the Dorsal or Median Raphe Nuclei on Extracellular Levels of Serotonin in Serotonergic Projection Areas in the Rat Brain." *Neuroscience Letters* 137 (1) (March 16): 101–104.
- Born, Jan, Tanja Lange, Werner Kern, Gerard P. McGregor, Ulrich Bickel, and Horst L. Fehm. 2002. "Sniffing Neuropeptides: a Transnasal Approach to the Human Brain." *Nature Neuroscience* 5 (6) (June): 514–516. doi:10.1038/nn0602-849.
- Bristot Silvestrin, Roberta, Victorio Bambini-Junior, Fabiana Galland, Larissa Daniele Bobermim, André Quincozes- Santos, Renata Torres Abib, Caroline Zanotto, et al. 2013. "Animal Model of Autism Induced by Prenatal Exposure to Valproate: Altered Glutamate Metabolism in the Hippocampus." *Brain Research* 1495 (February 7): 52–60. doi:10.1016/j.brainres.2012.11.048.
- Buchheim, Anna, Markus Heinrichs, Carol George, Dan Pokorny, Eva Koops, Peter Henningsen, Mary-Frances O'Connor, and Harald Gündel. 2009. "Oxytocin Enhances the Experience of Attachment Security." *Psychoneuroendocrinology* 34 (9) (October): 1417–1422. doi:10.1016/j.psyneuen.2009.04.002.
- Buss, a H, and M Perry. 1992. "The Aggression Questionnaire." *Journal of Personality and Social Psychology* 63 (3) (September): 452–9.

- Calder, Andrew J, Michael Ewbank, and Luca Passamonti. 2011. "Personality Influences the Neural Responses to Viewing Facial Expressions of Emotion." *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 366 (June 12): 1684–701.
- Caldwell, Heather K., Heon-Jin Lee, Abbe H. Macbeth, and W. Scott Young III. 2008. "Vasopressin: Behavioral Roles of an 'original' Neuropeptide." *Progress in Neurobiology* 84 (1) (January): 1–24. doi:10.1016/j.pneurobio.2007.10.007.
- Canli, T, Z Zhao, JE Desmond, and E Kang. 2001. "An fMRI Study of Personality Influences on Brain Reactivity to Emotional Stimuli." *Behavioral Neuroscience* 115 (1): 33–42.
- Caprara, Gian Vittorio, and Patrizia Steca. 2005. "Affective and Social Self-Regulatory Efficacy Beliefs as Determinants of Positive Thinking and Happiness." *European Psychologist* 10 (4): 275–286. doi:10.1027/1016-9040.10.4.275.
- Carlson, Joshua Michael, Tsafir Greenberg, and Lilianne R Mujica-Parodi. 2010. "Blind Rage? Heightened Anger Is Associated with Altered Amygdala Responses to Masked and Unmasked Fearful Faces." *Psychiatry Research* 182 (3) (June 30): 281–3.
- Carré, Justin M, Patrick M Fisher, Stephen B Manuck, and Ahmad R Hariri. 2010. "Interaction Between Trait Anxiety and Trait Anger Predict Amygdala Reactivity to Angry Facial Expressions in Men but Not Women." *Social Cognitive and Affective Neuroscience* 7 (2) (February): 213–21.
- Carter, C. Sue, Jessie R. Williams, Diane M. Witt, and Thomas R. Insel. 1992. "Oxytocin and Social Bonding." *Annals of the New York Academy of Sciences* 652 (1): 204–211. doi:10.1111/j.1749-6632.1992.tb34356.x.
- Cassoni, P, A Sapino, T Marrocco, B Chini, and G Bussolati. 2004. "Oxytocin and Oxytocin Receptors in Cancer Cells and Proliferation." *Journal of Neuroendocrinology* 16 (4) (April): 362–364. doi:10.1111/j.0953-8194.2004.01165.x.
- Chandana, Sreenivasa R, Michael E Behen, Csaba Juhász, Otto Muzik, Robert D Rothermel, Thomas J Mangner, Pulak K Chakraborty, Harry T Chugani, and Diane C Chugani. 2005. "Significance of abnormalities in developmental trajectory and asymmetry of cortical serotonin synthesis in autism." *International journal of developmental neuroscience: the official journal of the International Society for Developmental Neuroscience* 23 (2-3) (May): 171–182. doi:10.1016/j.ijdevneu.2004.08.002.
- Chugani, D C. 2002. "Role of Altered Brain Serotonin Mechanisms in Autism." *Molecular Psychiatry* 7 Suppl 2: S16–17. doi:10.1038/sj.mp.4001167.
- Cools, Roshan, Angela C Roberts, and Trevor W Robbins. 2008. "Serotonergic regulation of emotional and behavioural control processes." *Trends in cognitive sciences* 12 (1) (January): 31–40. doi:10.1016/j.tics.2007.10.011.
- Costes, Nicolas, Isabelle Merlet, Karine Ostrowsky, Isabelle Faillenot, Franck Lavenne, Luc Zimmer, Philippe Ryvlin, and Didier Le Bars. 2005. "A 18F-MPPF PET Normative Database of 5-HT1A Receptor Binding in Men and Women over Aging." *Journal of Nuclear Medicine: Official Publication, Society of Nuclear Medicine* 46 (12) (December): 1980–1989.
- Crockett, Molly J, Luke Clark, Golnaz Tabibnia, Matthew D Lieberman, and Trevor W Robbins. 2008. "Serotonin Modulates Behavioral Reactions to Unfairness." *Science (New York, N.Y.)* 320 (5884) (June 27): 1739. doi:10.1126/science.1155577.

- Cyranowski, J. M., T. L. Hofkens, E. Frank, H. Seltman, H.-M. Cai, and J. A. Amico. 2008. "Evidence of Dysregulated Peripheral Oxytocin Release Among Depressed Women." *Psychosomatic Medicine* 70 (9) (October 8): 967–975. doi:10.1097/PSY.0b013e318188ade4.
- Dabrowska, Joanna, Rimi Hazra, Todd H. Ahern, Ji-Dong Guo, Alexander J. McDonald, Franco Mascagni, Jay F. Muller, Larry J. Young, and Donald G. Rainnie. 2011. "Neuroanatomical Evidence for Reciprocal Regulation of the Corticotrophin-releasing Factor and Oxytocin Systems in the Hypothalamus and the Bed Nucleus of the Stria Terminalis of the Rat: Implications for Balancing Stress and Affect." *Psychoneuroendocrinology* 36 (9) (October): 1312–1326. doi:10.1016/j.psyneuen.2011.03.003.
- Dale, H H. 1906. "On some physiological actions of ergot." *The Journal of physiology* 34 (3) (May 31): 163–206.
- Damasio, AR. 1994. *Descarte's Error*. Edited by GP Putnam. New York.
- Davidson, RJ. 2000. "Dysfunction in the Neural Circuitry of Emotion Regulation--A Possible Prelude to Violence." *Science* 289 (5479) (July 28): 591–594.
- Davis, M. 1992. "The Role of the Amygdala in Fear and Anxiety." *Annual Review of Neuroscience* 15 (1): 353–375. doi:10.1146/annurev.ne.15.030192.002033.
- Daw, Nathaniel D, Sham Kakade, and Peter Dayan. 2002. "Opponent interactions between serotonin and dopamine." *Neural networks: the official journal of the International Neural Network Society* 15 (4-6) (July): 603–616.
- Didelot, Adrien, François Mauguière, Jérôme Redouté, Sandrine Bouvard, Amélie Lothe, Anthonin Reilhac, Alexander Hammers, Nicolas Costes, and Philippe Ryvlin. 2010. "Voxel-based analysis of asymmetry index maps increases the specificity of 18F-MPPF PET abnormalities for localizing the epileptogenic zone in temporal lobe epilepsies." *Journal of nuclear medicine: official publication, Society of Nuclear Medicine* 51 (11) (November): 1732–1739. doi:10.2967/jnumed.109.070938.
- Domes, Gregor, Markus Heinrichs, Andre Michel, Christoph Berger, and Sabine C Herpertz. 2007. "Oxytocin improves 'mind-reading' in humans." *Biological psychiatry* 61 (6) (March 15): 731–733. doi:10.1016/j.biopsych.2006.07.015.
- De Dreu, Carsten K W, Lindred L Greer, Michel J J Handgraaf, Shaul Shalvi, Gerben A Van Kleef, Matthijs Baas, Femke S Ten Velden, Eric Van Dijk, and Sander W W Feith. 2010. "The neuropeptide oxytocin regulates parochial altruism in intergroup conflict among humans." *Science (New York, N.Y.)* 328 (5984) (June 11): 1408–1411. doi:10.1126/science.1189047.
- Drevets, Wayne C, Joseph L Price, and Maura L Furey. 2008. "Brain Structural and Functional Abnormalities in Mood Disorders: Implications for Neurocircuitry Models of Depression." *Brain Structure & Function* 213 (1-2) (September): 93–118. doi:10.1007/s00429-008-0189-x.
- Drevets, Wayne C, Michael E Thase, Eydie L Moses-Kolko, Julie Price, Ellen Frank, David J Kupfer, and Chester Mathis. 2007. "Serotonin-1A Receptor Imaging in Recurrent Depression: Replication and Literature Review." *Nuclear Medicine and Biology* 34 (7) (October): 865–877. doi:10.1016/j.nucmedbio.2007.06.008.
- Eastwood, J D, D Smilek, and P M Merikle. 2001. "Differential Attentional Guidance by Unattended Faces Expressing Positive and Negative Emotion." *Perception & Psychophysics* 63 (6) (August): 1004–13.
- Eaton, Jennifer L, Laura Roache, Khanhbao N Nguyen, Bruce S Cushing, Emma Troyer, Eros Papademetriou, and Mary Ann Raghanti. 2012. "Organizational Effects of Oxytocin on

- Serotonin Innervation.” *Developmental Psychobiology* 54 (1) (January): 92–97. doi:10.1002/dev.20566.
- Ebstein, Richard P, Ariel Knafo, David Mankuta, Soo Hong Chew, and Poh San Lai. 2012a. “The contributions of oxytocin and vasopressin pathway genes to human behavior.” *Hormones and behavior* 61 (3) (March): 359–379. doi:10.1016/j.yhbeh.2011.12.014.
- Ebstein, Richard P., Ariel Knafo, David Mankuta, Soo Hong Chew, and Poh San Lai. 2012b. “The Contributions of Oxytocin and Vasopressin Pathway Genes to Human Behavior.” *Hormones and Behavior* 61 (3) (March): 359–379. doi:10.1016/j.yhbeh.2011.12.014.
- Eisenberger, Naomi I, Matthew D Lieberman, and Kipling D Williams. 2003. “Does rejection hurt? An fMRI study of social exclusion.” *Science (New York, N.Y.)* 302 (5643) (October 10): 290–292. doi:10.1126/science.1089134.
- Ekman, Paul, WV Friesen, and M O’Sullivan. 1987. “Universals and Cultural Differences in the Judgments of Facial Expressions of Emotion.” *Journal of Personality* 5 (4): 712–717.
- Van Elst, L T, F G Woermann, L Lemieux, P J Thompson, and M R Trimble. 2000. “Affective Aggression in Patients with Temporal Lobe Epilepsy: a Quantitative MRI Study of the Amygdala.” *Brain : a Journal of Neurology* 123 (Pt 2 (February): 234–43.
- Emiliano, Ana B F, Thomaz Cruz, Valerie Pannoni, and Julie L Fudge. 2007. “The Interface of Oxytocin-labeled Cells and Serotonin Transporter-containing Fibers in the Primate Hypothalamus: a Substrate for SSRIs Therapeutic Effects?” *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology* 32 (5) (May): 977–988. doi:10.1038/sj.npp.1301206.
- Fekete, Erin M., Michael H. Antoni, Corina Lopez, Armando J. Mendez, Angela Szeto, Mary Ann Fletcher, Nancy Klimas, Mahendra Kumar, and Neil Schneiderman. 2011. “Stress Buffering Effects of Oxytocin on HIV Status in Low-income Ethnic Minority Women.” *Psychoneuroendocrinology* 36 (6) (July): 881–890. doi:10.1016/j.psyneuen.2010.12.003.
- Feldman, Ruth. 2012. “Oxytocin and social affiliation in humans.” *Hormones and behavior* 61 (3) (March): 380–391. doi:10.1016/j.yhbeh.2012.01.008.
- Ferguson, J N, L J Young, E F Hearn, M M Matzuk, T R Insel, and J T Winslow. 2000. “Social Amnesia in Mice Lacking the Oxytocin Gene.” *Nature Genetics* 25 (3) (July): 284–288. doi:10.1038/77040.
- Fink, Klaus B, and Manfred Göthert. 2007. “5-HT Receptor Regulation of Neurotransmitter Release.” *Pharmacological Reviews* 59 (4) (December): 360–417. doi:10.1124/pr.107.07103.
- Fisher, P M, C C Meltzer, S K Ziolk, J C Price, E L Moses-Kolko, S L Berga, and A R Hariri. 2006. “Capacity for 5-HT_{1A}-mediated Autoregulation Predicts Amygdala Reactivity.” *Nature Neuroscience* 9 (11) (November): 1362–1363. doi:10.1038/nn1780.
- Fox, Elaine, Victoria Lester, Riccardo Russo, RJ Bowles, Alessio Pichler, and K Dutton. 2007. “Facial Expressions of Emotion: Are Angry Faces Detected More Efficiently?” *Cognition & Emotion* 14 (045800): 1–26.
- Fox, Elaine, and Riccardo Russo. 2005. “Anxiety Modulates the Degree of Attentive Resources Required to Process Emotional Faces.” *Cognitive, Affective, & Behavioral* 5 (4): 396–404.
- Fox, Elaine, Riccardo Russo, and Robert Bowles. 2001. “Do Threatening Stimuli Draw or Hold Visual Attention in Subclinical Anxiety?” *Journal of Experimental* 130 (4): 681–700.

- Frey, Benicio N, Pedro Rosa-Neto, Stuart Lubarsky, and Mirko Diksic. 2008. "Correlation Between Serotonin Synthesis and 5-HT1A Receptor Binding in the Living Human Brain: a Combined alpha-[11C]MT and [18F]MPPF Positron Emission Tomography Study." *NeuroImage* 42 (2) (August 15): 850–857. doi:10.1016/j.neuroimage.2008.05.009.
- Frith, Chris D, and Uta Frith. 2007. "Social cognition in humans." *Current biology: CB* 17 (16) (August 21): R724–732. doi:10.1016/j.cub.2007.05.068.
- Geschwind, Daniel H, and Pat Levitt. 2007. "Autism Spectrum Disorders: Developmental Disconnection Syndromes." *Current Opinion in Neurobiology* 17 (1) (February): 103–111. doi:10.1016/j.conb.2007.01.009.
- Gillott, A, F Furniss, and A Walter. 2001. "Anxiety in high-functioning children with autism." *Autism: the international journal of research and practice* 5 (3) (September): 277–286.
- Gimpl, G, and F Fahrenholz. 2001. "The Oxytocin Receptor System: Structure, Function, and Regulation." *Physiological Reviews* 81 (2) (April): 629–683.
- Gordon, Ilanit, Carina Martin, Ruth Feldman, and James F Leckman. 2011. "Oxytocin and Social Motivation." *Developmental Cognitive Neuroscience* 1 (4) (October): 471–493. doi:10.1016/j.dcn.2011.07.007.
- Gordon, Ilanit, Orna Zagoory-Sharon, James F. Leckman, and Ruth Feldman. 2010. "Oxytocin and the Development of Parenting in Humans." *Biological Psychiatry* 68 (4) (August 15): 377–382. doi:10.1016/j.biopsych.2010.02.005.
- Gouin, Jean-Philippe, C. Sue Carter, Hossein Pournajafi-Nazarloo, Ronald Glaser, William B. Malarkey, Timothy J. Loving, Jeffrey Stowell, and Janice K. Kiecolt-Glaser. 2010. "Marital Behavior, Oxytocin, Vasopressin, and Wound Healing." *Psychoneuroendocrinology* 35 (7) (August): 1082–1090. doi:10.1016/j.psyneuen.2010.01.009.
- Gozlan, H, S Thibault, A M Laporte, L Lima, and M Hamon. 1995. "The Selective 5-HT1A Antagonist Radioligand [3H]WAY 100635 Labels Both G-protein-coupled and Free 5-HT1A Receptors in Rat Brain Membranes." *European Journal of Pharmacology* 288 (2) (January 16): 173–186.
- Graziano, William G, Meara M Habashi, Brad E Sheese, and Renée M Tobin. 2007. "Agreeableness, empathy, and helping: a person x situation perspective." *Journal of personality and social psychology* 93 (4) (October): 583–599. doi:10.1037/0022-3514.93.4.583.
- Green, L, D Fein, C Modahl, C Feinstein, L Waterhouse, and M Morris. 2001. "Oxytocin and autistic disorder: alterations in peptide forms." *Biological psychiatry* 50 (8) (October 15): 609–613.
- Gross, Cornelius, Xiaoxi Zhuang, Kimberly Stark, Sylvie Ramboz, Ronald Oosting, Lynn Kirby, Luca Santarelli, Sheryl Beck, and René Hen. 2002. "Serotonin1A Receptor Acts During Development to Establish Normal Anxiety-like Behaviour in the Adult." *Nature* 416 (6879) (March 28): 396–400. doi:10.1038/416396a.
- Guastella, Adam J, Stewart L Einfeld, Kylie M Gray, Nicole J Rinehart, Bruce J Tonge, Timothy J Lambert, and Ian B Hickie. 2010. "Intranasal oxytocin improves emotion recognition for youth with autism spectrum disorders." *Biological psychiatry* 67 (7) (April 1): 692–694. doi:10.1016/j.biopsych.2009.09.020.
- Guastella, Adam J, Philip B Mitchell, and Mark R Dadds. 2008. "Oxytocin Increases Gaze to the Eye Region of Human Faces." *Biological Psychiatry* 63 (1) (January 1): 3–5. doi:10.1016/j.biopsych.2007.06.026.

- Gunn, R N, P A Sargent, C J Bench, E A Rabiner, S Osman, V W Pike, S P Hume, P M Grasby, and A A Lammertsma. 1998. "Tracer kinetic modeling of the 5-HT1A receptor ligand [carbonyl-11C]WAY-100635 for PET." *NeuroImage* 8 (4) (November): 426–440. doi:10.1006/nimg.1998.0379.
- Hadjikhani, Nouchine. 2010. "Serotonin, pregnancy and increased autism prevalence: is there a link?" *Medical hypotheses* 74 (5) (May): 880–883. doi:10.1016/j.mehy.2009.11.015.
- Hariri, A R, and D R Weinberger. 2003. "Functional neuroimaging of genetic variation in serotonergic neurotransmission." *Genes, brain, and behavior* 2 (6) (December): 341–349.
- Hasler, Gregor, Wayne C Drevets, Hussein K Manji, and Dennis S Charney. 2004. "Discovering Endophenotypes for Major Depression." *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology* 29 (10) (October): 1765–1781. doi:10.1038/sj.npp.1300506.
- Haxby, James V, Elizabeth A Hoffman, and M Ida Gobbini. 2002. "Human neural systems for face recognition and social communication." *Biological psychiatry* 51 (1) (January 1): 59–67.
- Heckemann, Rolf A, Shiva Keihaninejad, Paul Aljabar, Daniel Rueckert, Joseph V Hajnal, Alexander Hammers, and Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. 2010. "Improving intersubject image registration using tissue-class information benefits robustness and accuracy of multi-atlas based anatomical segmentation." *NeuroImage* 51 (1) (May 15): 221–227. doi:10.1016/j.neuroimage.2010.01.072.
- Heim, C, L J Young, D J Newport, T Mletzko, A H Miller, and C B Nemeroff. 2009. "Lower CSF Oxytocin Concentrations in Women with a History of Childhood Abuse." *Molecular Psychiatry* 14 (10) (October): 954–958. doi:10.1038/mp.2008.112.
- Heinrichs, Markus, Thomas Baumgartner, Clemens Kirschbaum, and Ulrike Ehler. 2003. "Social Support and Oxytocin Interact to Suppress Cortisol and Subjective Responses to Psychosocial Stress." *Biological Psychiatry* 54 (12) (December 15): 1389–1398.
- Heinrichs, Markus, and Gregor Domes. 2008. "Neuropeptides and Social Behaviour: Effects of Oxytocin and Vasopressin in Humans." In *Progress in Brain Research*, edited by Inga D. Neumann and Rainer Landgraf, Volume 170:337–350. Elsevier.
- Herman, James P., Helmer Figueiredo, Nancy K. Mueller, Yvonne Ulrich-Lai, Michelle M. Ostrander, Dennis C. Choi, and William E. Cullinan. 2003. "Central Mechanisms of Stress Integration: Hierarchical Circuitry Controlling Hypothalamo–pituitary–adrenocortical Responsiveness." *Frontiers in Neuroendocrinology* 24 (3) (July): 151–180. doi:10.1016/j.yfrne.2003.07.001.
- Heuer, Kathrin, Wolf-Gero Lange, Linda Isaac, Mike Rinck, and Eni S Becker. 2010. "Morphed Emotional Faces: Emotion Detection and Misinterpretation in Social Anxiety." *Journal of Behavior Therapy and Experimental Psychiatry* 41 (4) (December): 418–25.
- Hext, LJ, and Y Lunsky. 1997. "A Social Skills program: 'A Learning by Doing Model.'" *Habilitative Mental Healthcare Newsletter* 16: 7–10.
- Ho, Sara S N, Billy K C Chow, and Wing-Ho Yung. 2007. "Serotonin Increases the Excitability of the Hypothalamic Paraventricular Nucleus Magnocellular Neurons." *The European Journal of Neuroscience* 25 (10) (May): 2991–3000. doi:10.1111/j.1460-9568.2007.05547.x.
- Hollander, Eric, Jennifer Bartz, William Chaplin, Ann Phillips, Jennifer Sumner, Latha Soorya, Evdokia Anagnostou, and Stacey Wasserman. 2007. "Oxytocin increases retention of social cognition in autism." *Biological psychiatry* 61 (4) (February 15): 498–503. doi:10.1016/j.biopsych.2006.05.030.

- Hollander, Eric, Sherie Novotny, Margaret Hanratty, Rona Yaffe, Concetta M DeCaria, Bonnie R Aronowitz, and Serge Mosovich. 2003. "Oxytocin Infusion Reduces Repetitive Behaviors in Adults with Autistic and Asperger's Disorders." *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology* 28 (1) (January): 193–198. doi:10.1038/sj.npp.1300021.
- Van Honk, J, A Tuiten, M Van den Hout, H Koppeschaar, J Thijssen, E de Haan, and R Verbaten. 2000. "Conscious and Preconscious Selective Attention to Social Threat: Different Neuroendocrine Response Patterns." *Psychoneuroendocrinology* 25 (6) (August): 577–91.
- Van Honk, Jack, Adriaan Tuiten, Marcel Van Den Hout, and Peter Putman. 2001. "Selective Attention to Unmasked and Masked Threatening Words: Relationships to Trait Anger and Anxiety." *Personality and Individual Differences* 30 (4) (March): 711–720.
- Hornung, Jean-Pierre. 2003. "The human raphe nuclei and the serotonergic system." *Journal of chemical neuroanatomy* 26 (4) (December): 331–343.
- Huber, Daniel, Pierre Veinante, and Ron Stoop. 2005. "Vasopressin and Oxytocin Excite Distinct Neuronal Populations in the Central Amygdala." *Science* 308 (5719) (August 4): 245–248. doi:10.1126/science.1105636.
- Insel, T R. 1997. "A neurobiological basis of social attachment." *The American journal of psychiatry* 154 (6) (June): 726–735.
- Insel, T R, D J O'Brien, and J F Leckman. 1999. "Oxytocin, vasopressin, and autism: is there a connection?" *Biological psychiatry* 45 (2) (January 15): 145–157.
- Insel, Thomas R, and Russell D Fernald. 2004. "How the Brain Processes Social Information: Searching for the Social Brain." *Annual Review of Neuroscience* 27 (January): 697–722.
- Izard, C E. 1992. "Basic Emotions, Relations Among Emotions, and Emotion-cognition Relations." *Psychological Review* 99 (3) (July): 561–5.
- Jacob, Suma, Camille W Brune, C S Carter, Bennett L Leventhal, Catherine Lord, and Edwin H Cook Jr. 2007. "Association of the oxytocin receptor gene (OXTR) in Caucasian children and adolescents with autism." *Neuroscience letters* 417 (1) (April 24): 6–9. doi:10.1016/j.neulet.2007.02.001.
- Jakoby, B W, Y Bercier, M Conti, M E Casey, B Bendriem, and D W Townsend. 2011. "Physical and clinical performance of the mCT time-of-flight PET/CT scanner." *Physics in medicine and biology* 56 (8) (April 21): 2375–2389. doi:10.1088/0031-9155/56/8/004.
- Jansen, Lucre M C, Christine C Gispen-de Wied, Victor M Wiegant, Herman G M Westenberg, Bertine E Lahuis, and Herman van Engeland. 2006. "Autonomic and neuroendocrine responses to a psychosocial stressor in adults with autistic spectrum disorder." *Journal of autism and developmental disorders* 36 (7) (October): 891–899. doi:10.1007/s10803-006-0124-z.
- Janusonis, Skirmantas, George M Anderson, Ilya Shifrovich, and Pasko Rakic. 2006. "Ontogeny of Brain and Blood Serotonin Levels in 5-HT Receptor Knockout Mice: Potential Relevance to the Neurobiology of Autism." *Journal of Neurochemistry* 99 (3) (November): 1019–1031. doi:10.1111/j.1471-4159.2006.04150.x.
- Jin, Duo, Hong-Xiang Liu, Hirokazu Hirai, Takashi Torashima, Taku Nagai, Olga Lopatina, Natalia A. Shnayder, et al. 2007. "CD38 Is Critical for Social Behaviour by Regulating Oxytocin Secretion." *Nature* 446 (7131) (January 3): 41–45. doi:10.1038/nature05526.

- Jokinen, Jussi, Andreas Chatzittofis, Christer Hellström, Peter Nordström, Kerstin Uvnäs-Moberg, and Marie Åsberg. 2012. "Low CSF Oxytocin Reflects High Intent in Suicide Attempters." *Psychoneuroendocrinology* 37 (4) (April): 482–490. doi:10.1016/j.psyneuen.2011.07.016.
- De Jong, Trynke R, Jan G Veening, Berend Olivier, and Marcel D Waldinger. 2007. "Oxytocin Involvement in SSRI-induced Delayed Ejaculation: a Review of Animal Studies." *The Journal of Sexual Medicine* 4 (1) (January): 14–28. doi:10.1111/j.1743-6109.2006.00394.x.
- Jørgensen, H, M Riis, U Knigge, A Kjaer, and J Warberg. 2003. "Serotonin Receptors Involved in Vasopressin and Oxytocin Secretion." *Journal of Neuroendocrinology* 15 (3) (March): 242–249.
- Kagerbauer, Simone M, Jan Martin, Tibor Schuster, Manfred Blobner, Eberhard F Kochs, and Rainer Landgraf. 2013a. "Plasma oxytocin and vasopressin do not predict neuropeptide concentrations in the human cerebrospinal fluid." *Journal of neuroendocrinology* (April 11). doi:10.1111/jne.12038.
- Kalin, N H, D M Gibbs, C M Barksdale, S E Shelton, and M Carnes. 1985. "Behavioral Stress Decreases Plasma Oxytocin Concentrations in Primates." *Life Sciences* 36 (13) (April 1): 1275–1280.
- Kawahara, H, M Yoshida, H Yokoo, M Nishi, and M Tanaka. 1993. "Psychological stress increases serotonin release in the rat amygdala and prefrontal cortex assessed by in vivo microdialysis." *Neuroscience letters* 162 (1-2) (November 12): 81–84.
- Kaye, Walter H, Christina E Wierenga, Ursula F Bailer, Alan N Simmons, and Amanda Bischoff-Grethe. 2013. "Nothing Tastes as Good as Skinny Feels: The Neurobiology of Anorexia Nervosa." *Trends in Neurosciences* 36 (2) (February): 110–120. doi:10.1016/j.tins.2013.01.003.
- Kendrick, K M, A P Da Costa, K D Broad, S Ohkura, R Guevara, F Lévy, and E B Keverne. 1997. "Neural control of maternal behaviour and olfactory recognition of offspring." *Brain research bulletin* 44 (4): 383–395.
- Kimura, Tadashi, Osamu Tanizawa, Kensaku Mori, Michael J. Brownstein, and Hiroto Okayama. 1992. "Structure and Expression of a Human Oxytocin Receptor." *Nature* 356 (6369) (April 9): 526–529. doi:10.1038/356526a0.
- Kirsch, Peter, Christine Esslinger, Qiang Chen, Daniela Mier, Stefanie Lis, Sarina Siddhanti, Harald Gruppe, Venkata S Mattay, Bernd Gallhofer, and Andreas Meyer-Lindenberg. 2005. "Oxytocin Modulates Neural Circuitry for Social Cognition and Fear in Humans." *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 25 (49) (December 7): 11489–11493. doi:10.1523/JNEUROSCI.3984-05.2005.
- Klemenhagen, Kristen C, Joshua A Gordon, Denis J David, René Hen, and Cornelius T Gross. 2006. "Increased Fear Response to Contextual Cues in Mice Lacking the 5-HT1A Receptor." *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology* 31 (1) (January): 101–111. doi:10.1038/sj.npp.1300774.
- Klin, Ami. 2006. "[Autism and Asperger syndrome: an overview]." *Revista brasileira de psiquiatria (São Paulo, Brazil: 1999)* 28 Suppl 1 (May): S3–11. doi:S1516-44462006000500002.
- Knobloch, H Sophie, Alexandre Charlet, Lena C Hoffmann, Marina Eliava, Sergey Khrulev, Ali H Cetin, Pavel Osten, et al. 2012a. "Evoked axonal oxytocin release in the central amygdala attenuates fear response." *Neuron* 73 (3) (February 9): 553–566. doi:10.1016/j.neuron.2011.11.030.

- Koebach, Johannes, Thomas Stockner, Christian Bergmayr, Markus Muttenthaler, and Christian W Gruber. 2013. "Insights into the molecular evolution of oxytocin receptor ligand binding." *Biochemical Society transactions* 41 (1) (February 1): 197–204. doi:10.1042/BST20120256.
- Kosfeld, Michael, Markus Heinrichs, Paul J Zak, Urs Fischbacher, and Ernst Fehr. 2005. "Oxytocin Increases Trust in Humans." *Nature* 435 (7042) (June 2): 673–676. doi:10.1038/nature03701.
- Landgraf, Rainer, and Inga D Neumann. 2004a. "Vasopressin and oxytocin release within the brain: a dynamic concept of multiple and variable modes of neuropeptide communication." *Frontiers in neuroendocrinology* 25 (3-4) (December): 150–176. doi:10.1016/j.yfrne.2004.05.001.
- Langworthy-Lam, Kristen S, Michael G Aman, and Mary E Van Bourgondien. 2002. "Prevalence and patterns of use of psychoactive medicines in individuals with autism in the Autism Society of North Carolina." *Journal of child and adolescent psychopharmacology* 12 (4): 311–321. doi:10.1089/104454602762599853.
- Lanzenberger, Rupert R, Markus Mitterhauser, Christoph Spindelegger, Wolfgang Wadsak, Nikolas Klein, Leonhard-Key Mien, Alexander Holik, et al. 2007. "Reduced serotonin-1A Receptor Binding in Social Anxiety Disorder." *Biological Psychiatry* 61 (9) (May 1): 1081–1089. doi:10.1016/j.biopsych.2006.05.022.
- LeDoux, J E, J Iwata, P Cicchetti, and D J Reis. 1988. "Different projections of the central amygdaloid nucleus mediate autonomic and behavioral correlates of conditioned fear." *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience* 8 (7) (July): 2517–2529.
- Lee, Heon-Jin, Abbe H Macbeth, Jerome H Pagani, and W Scott Young 3rd. 2009. "Oxytocin: the great facilitator of life." *Progress in neurobiology* 88 (2) (June): 127–151. doi:10.1016/j.pneurobio.2009.04.001.
- Lee, Royce, Craig Ferris, L.D. Van de Kar, and Emil F. Coccaro. 2009. "Cerebrospinal Fluid Oxytocin, Life History of Aggression, and Personality Disorder." *Psychoneuroendocrinology* 34 (10) (November): 1567–1573. doi:10.1016/j.psyneuen.2009.06.002.
- Lee, Royce, Francisca Garcia, Louis D van de Kar, Richard D Hauger, and Emil F Coccaro. 2003. "Plasma Oxytocin in Response to Pharmacological Challenge to D-fenfluramine and Placebo in Healthy Men." *Psychiatry Research* 118 (2) (May 30): 129–136.
- Leng, Gareth, and Mike Ludwig. 2008. "Neurotransmitters and Peptides: Whispered Secrets and Public Announcements." *The Journal of Physiology* 586 (23) (January 12): 5625–5632. doi:10.1113/jphysiol.2008.159103.
- Lerer, E., S. Levi, S. Salomon, A. Darvasi, N. Yirmiya, and R. P. Ebstein. 2007. "Association Between the Oxytocin Receptor (OXTR) Gene and Autism: Relationship to Vineland Adaptive Behavior Scales and Cognition." *Molecular Psychiatry* 13 (10) (September 25): 980–988. doi:10.1038/sj.mp.4002087.
- Liberzon, Israel, and Elizabeth A. Young. 1997. "Effects of Stress and Glucocorticoids on CNS Oxytocin Receptor Binding." *Psychoneuroendocrinology* 22 (6) (August): 411–422. doi:10.1016/S0306-4530(97)00045-0.
- Lim, Miranda M, and Larry J Young. 2006. "Neuropeptidergic regulation of affiliative behavior and social bonding in animals." *Hormones and behavior* 50 (4) (November): 506–517. doi:10.1016/j.yhbeh.2006.06.028.
- Little, A C, D M Burt, I S Penton-Voak, and D I Perrett. 2001. "Self-perceived attractiveness influences human female preferences for sexual dimorphism and symmetry in male faces." *Proceedings*.

- Loup, F, E Tribollet, M Dubois-Dauphin, G Pizzolato, and J J Dreifuss. 1989. “Localization of Oxytocin Binding Sites in the Human Brainstem and Upper Spinal Cord: An Autoradiographic Study.” *Brain Research* 500 (1-2) (October 23): 223–230.
- Loveland, K a, B Tunali-Kotoski, Y R Chen, J Ortegon, D a Pearson, K a Brelsford, and M C Gibbs. 1997. “Emotion Recognition in Autism: Verbal and Nonverbal Information.” *Development and Psychopathology* 9 (3) (January): 579–93.
- Lucht, Michael J, Sven Barnow, Christine Sonnenfeld, Albert Rosenberger, Hans Joergen Grabe, Winnie Schroeder, Henry Völzke, et al. 2009. “Associations between the oxytocin receptor gene (OXTR) and affect, loneliness and intelligence in normal subjects.” *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry* 33 (5) (August 1): 860–866. doi:10.1016/j.pnpbp.2009.04.004.
- Lucki, Irwin. 1998. “The Spectrum of Behaviors Influenced by Serotonin.” *Biological Psychiatry* 44 (3) (August 1): 151–162. doi:10.1016/S0006-3223(98)00139-5.
- Ludwig, Mike, and Gareth Leng. 2006. “Dendritic Peptide Release and Peptide-dependent Behaviours.” *Nature Reviews Neuroscience* 7 (2) (January 2): 126–136. doi:10.1038/nrn1845.
- Lundberg, Johan, Jacqueline Borg, Christer Halldin, and Lars Farde. 2007. “A PET study on regional coexpression of 5-HT1A receptors and 5-HTT in the human brain.” *Psychopharmacology* 195 (3) (December): 425–433. doi:10.1007/s00213-007-0928-3.
- Marazziti, Donatella, Stefano Baroni, Gino Giannaccini, Laura Betti, Gabriele Massimetti, Claudia Carmassi, and Mario Catena-Dell’Osso. 2012. “A Link Between Oxytocin and Serotonin in Humans: Supporting Evidence from Peripheral Markers.” *European Neuropsychopharmacology: The Journal of the European College of Neuropsychopharmacology* 22 (8) (August): 578–583. doi:10.1016/j.euroneuro.2011.12.010.
- Martí-Climent, J M, E Prieto, I Domínguez-Prado, M J García-Velloso, M Rodríguez-Fraile, J Arbizu, C Vigil, C Caicedo, I Peñuelas, and J A Richter. 2013. “[Contribution of time of flight and point spread function modeling to the performance characteristics of the PET/CT Biograph mCT scanner].” *Revista española de medicina nuclear e imagen molecular* 32 (1) (January): 13–21. doi:10.1016/j.remnm.2012.07.001.
- Martínez-Lorenzana, Guadalupe, Lizbeth Espinosa-López, Martha Carranza, Carlos Aramburo, Carlos Paz-Tres, Gerardo Rojas-Piloni, and Miguel Condés-Lara. 2008. “PVN Electrical Stimulation Prolongs Withdrawal Latencies and Releases Oxytocin in Cerebrospinal Fluid, Plasma, and Spinal Cord Tissue in Intact and Neuropathic Rats.” *PAIN* 140 (2) (November 30): 265–273. doi:10.1016/j.pain.2008.08.015.
- Matheson, Edith, and Andrew Jahoda. 2005. “Emotional Understanding in Aggressive and Nonaggressive Individuals with Mild or Moderate Mental Retardation.” *American Journal of Mental Retardation : AJMR* 110 (1) (January): 57–67.
- McCarthy, M M, C H McDonald, P J Brooks, and D Goldman. 1996. “An Anxiolytic Action of Oxytocin Is Enhanced by Estrogen in the Mouse.” *Physiology & Behavior* 60 (5) (November): 1209–1215.
- McCrae, R R. 1991. “The five-factor model and its assessment in clinical settings.” *Journal of personality assessment* 57 (3) (December): 399–314. doi:10.1207/s15327752jpa5703_2.

- McCullough, Michael E, Patricia Smith Churchland, and Armando J Mendez. 2013. "Problems with measuring peripheral oxytocin: Can the data on oxytocin and human behavior be trusted?" *Neuroscience and biobehavioral reviews* (May 9). doi:10.1016/j.neubiorev.2013.04.018.
- Mens, W B, A Witter, and T B van Wimersma Greidanus. 1983. "Penetration of Neurohypophyseal Hormones from Plasma into Cerebrospinal Fluid (CSF): Half-times of Disappearance of These Neuropeptides from CSF." *Brain Research* 262 (1) (February 28): 143–149.
- Mineka, S, and M Cook. 1993. "Mechanisms Involved in the Observational Conditioning of Fear." *Journal of Experimental Psychology. General* 122 (1) (March): 23–38.
- Modahl, C, L Green, D Fein, M Morris, L Waterhouse, C Feinstein, and H Levin. 1998. "Plasma Oxytocin Levels in Autistic Children." *Biological Psychiatry* 43 (4) (February 15): 270–277.
- Modi, Meera E, and Larry J Young. 2012. "The oxytocin system in drug discovery for autism: animal models and novel therapeutic strategies." *Hormones and behavior* 61 (3) (March): 340–350. doi:10.1016/j.yhbeh.2011.12.010.
- Mogg, Karin, and Brendan P Bradley. 1999. "Some Methodological Issues in Assessing Attentional Biases for Threatening Faces in Anxiety : a Replication Study Using a Modified Version of the Probe Detection Task." *Behaviour Research and Therapy* 37: 595–604.
- Mogg, Karin, Pierre Philippot, and Brendan P Bradley. 2004. "Selective Attention to Angry Faces in Clinical Social Phobia." *Journal of Abnormal Psychology* 113 (1) (February): 160–5.
- Moore, Derek G., R. Peter Hobson, and Anthony Lee. 1997. "Components of Person Perception: An Investigation with Autistic, Non-autistic Retarded and Typically Developing Children and Adolescents." *British Journal of Developmental Psychology* 15 (4) (November 12): 401–423.
- Moore, R Y, A E Halaris, and B E Jones. 1978. "Serotonin neurons of the midbrain raphe: ascending projections." *The Journal of comparative neurology* 180 (3) (August 1): 417–438. doi:10.1002/cne.901800302.
- Moos, F., and P. Richard. 1989. "Paraventricular and Supraoptic Bursting Oxytocin Cells in Rat Are Locally Regulated by Oxytocin and Functionally Related." *The Journal of Physiology* 408 (1) (January 1): 1–18.
- Murphy, D L, A M Andrews, C H Wichems, Q Li, M Tohda, and B Greenberg. 1998. "Brain serotonin neurotransmission: an overview and update with an emphasis on serotonin subsystem heterogeneity, multiple receptors, interactions with other neurotransmitter systems, and consequent implications for understanding the actions of serotonergic drugs." *The Journal of clinical psychiatry* 59 Suppl 15: 4–12.
- Nakamura, Kazuhiko, Yoshimoto Sekine, Yasuomi Ouchi, Masatsugu Tsujii, Etsuji Yoshikawa, Masami Futatsubashi, Kenji J Tsuchiya, et al. 2010. "Brain Serotonin and Dopamine Transporter Bindings in Adults with High-functioning Autism." *Archives of General Psychiatry* 67 (1) (January): 59–68. doi:10.1001/archgenpsychiatry.2009.137.
- Nelson, Randy J, and Brian C Trainor. 2007. "Neural Mechanisms of Aggression." *Nature Reviews. Neuroscience* 8 (7) (July): 536–46.
- Neumann, Inga D., and Rainer Landgraf. 2012. "Balance of Brain Oxytocin and Vasopressin: Implications for Anxiety, Depression, and Social Behaviors." *Trends in Neurosciences* 35 (11) (November): 649–659. doi:10.1016/j.tins.2012.08.004.

- Nussey, S. S., S. R. Page, V. T. Y. Ang, and J. S. Jenkins. 1988. "The Response of Plasma Oxytocin to Surgical Stress." *Clinical Endocrinology* 28 (3): 277–288. doi:10.1111/j.1365-2265.1988.tb01213.x.
- Ohman, A, D Lundqvist, and F Esteves. 2001. "The Face in the Crowd Revisited: a Threat Advantage with Schematic Stimuli." *Journal of Personality and Social Psychology* 80 (3) (March): 381–96.
- Osterling, J, and G Dawson. 1994. "Early recognition of children with autism: a study of first birthday home videotapes." *Journal of autism and developmental disorders* 24 (3) (June): 247–257.
- Pardo, Carlos A, and Charles G Eberhart. 2007. "The neurobiology of autism." *Brain pathology (Zurich, Switzerland)* 17 (4) (October): 434–447. doi:10.1111/j.1750-3639.2007.00102.x.
- Parks, Christopher L., Patricia S. Robinson, Etienne Sibille, Thomas Shenk, and Miklos Toth. 1998. "Increased Anxiety of Mice Lacking the serotonin1A Receptor." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 95 (18) (September 1): 10734–10739.
- Pedersen, C. A., J. A. Ascher, Y. L. Monroe, and A. J. Prange. 1982. "Oxytocin Induces Maternal Behavior in Virgin Female Rats." *Science* 216 (4546) (May 7): 648–650. doi:10.1126/science.7071605.
- Pelphrey, Kevin A, Noah J Sasson, J Steven Reznick, Gregory Paul, Barbara D Goldman, and Joseph Piven. 2002. "Visual scanning of faces in autism." *Journal of autism and developmental disorders* 32 (4) (August): 249–261.
- Péqueux, C, J C Hendrick, M T Hagelstein, V Geenen, and J J Legros. 2001. "Novel plasma extraction procedure and development of a specific enzyme-immunoassay of oxytocin: application to clinical and biological investigations of small cell carcinoma of the lung." *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation* 61 (5): 407–415.
- Peroutka, S J. 1995. "5-HT Receptors: Past, Present and Future." *Trends in Neurosciences* 18 (2) (February): 68–69.
- Phillips, Mary L, Wayne C Drevets, Scott L Rauch, and Richard Lane. 2003. "Neurobiology of Emotion Perception I: The Neural Basis of Normal Emotion Perception." *Biological Psychiatry* 54 (5) (September): 504–514.
- Pobbe, Roger L.H., Brandon L. Pearson, Erwin B. Defensor, Valerie J. Bolivar, W. Scott Young III, Heon-Jin Lee, D. Caroline Blanchard, and Robert J. Blanchard. 2012. "Oxytocin Receptor Knockout Mice Display Deficits in the Expression of Autism-related Behaviors." *Hormones and Behavior* 61 (3) (March): 436–444. doi:10.1016/j.yhbeh.2011.10.010.
- Porges, Stephen W. 2003. "Social engagement and attachment: a phylogenetic perspective." *Annals of the New York Academy of Sciences* 1008 (December): 31–47.
- Rapin, Isabelle. 2002. "The Autistic-Spectrum Disorders." *New England Journal of Medicine* 347 (5): 302–303. doi:10.1056/NEJMp020062.
- Raymond, G V, M L Bauman, and T L Kemper. 1996. "Hippocampus in autism: a Golgi analysis." *Acta neuropathologica* 91 (1): 117–119.
- Riem, Madelon M E, Marian J Bakermans-Kranenburg, Suzanne Pieper, Mattie Tops, Maarten A S Boksem, Robert R J M Vermeiren, Marinus H van Ijzendoorn, and Serge A R B Rombouts. 2011. "Oxytocin Modulates Amygdala, Insula, and Inferior Frontal Gyrus Responses to Infant Crying: a Randomized Controlled Trial." *Biological Psychiatry* 70 (3) (August 1): 291–297. doi:10.1016/j.biopsych.2011.02.006.

- Rilling, James K., Ashley C. DeMarco, Patrick D. Hackett, Richmond Thompson, Beate Ditzen, Rajan Patel, and Giuseppe Pagnoni. 2012. "Effects of Intranasal Oxytocin and Vasopressin on Cooperative Behavior and Associated Brain Activity in Men." *Psychoneuroendocrinology* 37 (4) (April): 447–461. doi:10.1016/j.psyneuen.2011.07.013.
- Rimmele, Ulrike, Karin Hediger, Markus Heinrichs, and Peter Klaver. 2009. "Oxytocin Makes a Face in Memory Familiar." *The Journal of Neuroscience* 29 (1) (January 7): 38–42. doi:10.1523/JNEUROSCI.4260-08.2009.
- Ring, Robert H., Jessica E. Malberg, Lisa Potestio, Julia Ping, Steve Boikess, Bin Luo, Lee E. Schechter, Stacey Rizzo, Zia Rahman, and Sharon Rosenzweig-Lipson. 2006. "Anxiolytic-like Activity of Oxytocin in Male Mice: Behavioral and Autonomic Evidence, Therapeutic Implications." *Psychopharmacology* 185 (2) (April 1): 218–225. doi:10.1007/s00213-005-0293-z.
- Ristic, Jelena, Laurent Mottron, Chris Kelland Friesen, Grace Iarocci, Jacob A Burack, and Alan Kingstone. 2005. "Eyes are special but not for everyone: the case of autism." *Brain research. Cognitive brain research* 24 (3) (August): 715–718. doi:10.1016/j.cogbrainres.2005.02.007.
- Rodrigues, Sarina M., Laura R. Saslow, Natalia Garcia, Oliver P. John, and Dacher Keltner. 2009. "Oxytocin Receptor Genetic Variation Relates to Empathy and Stress Reactivity in Humans." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106 (50) (December 15): 21437–21441. doi:10.1073/pnas.0909579106.
- Ross, Heather E, and Larry J Young. 2009. "Oxytocin and the neural mechanisms regulating social cognition and affiliative behavior." *Frontiers in neuroendocrinology* 30 (4) (October): 534–547. doi:10.1016/j.yfrne.2009.05.004.
- Rubin, Leah H., C. Sue Carter, Lauren Drogos, Hossein Pournajafi-Nazarloo, John A. Sweeney, and Pauline M. Maki. 2010. "Peripheral Oxytocin Is Associated with Reduced Symptom Severity in Schizophrenia." *Schizophrenia Research* 124 (1–3) (December): 13–21. doi:10.1016/j.schres.2010.09.014.
- Sabatier, N. 2006. "α-Melanocyte-Stimulating Hormone and Oxytocin: A Peptide Signalling Cascade in the Hypothalamus." *Journal of Neuroendocrinology* 18 (9): 703–710. doi:10.1111/j.1365-2826.2006.01464.x.
- Saphire-Bernstein, Shimon, Baldwin M Way, Heejung S Kim, David K Sherman, and Shelley E Taylor. 2011. "Oxytocin receptor gene (OXTR) is related to psychological resources." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108 (37) (September 13): 15118–15122. doi:10.1073/pnas.1113137108.
- Savitz, Jonathan, Irwin Lucki, and Wayne C Drevets. 2009. "5-HT(1A) Receptor Function in Major Depressive Disorder." *Progress in Neurobiology* 88 (1) (May): 17–31. doi:10.1016/j.pneurobio.2009.01.009.
- Sawchenko, P E, L W Swanson, H W Steinbusch, and A A Verhofstad. 1983. "The Distribution and Cells of Origin of Serotonergic Inputs to the Paraventricular and Supraoptic Nuclei of the Rat." *Brain Research* 277 (2) (October 31): 355–360.
- Scantamburlo, G, M Hansenne, S Fuchs, W Pitchot, P Maréchal, C Pequeux, M Ansseau, and J J Legros. 2007a. "Plasma oxytocin levels and anxiety in patients with major depression." *Psychoneuroendocrinology* 32 (4) (May): 407–410. doi:10.1016/j.psyneuen.2007.01.009.

- Scantamburlo, G., M. Hansenne, S. Fuchs, W. Pitchot, P. Maréchal, C. Pequeux, M. Anseau, and J.J. Legros. 2007b. "Plasma Oxytocin Levels and Anxiety in Patients with Major Depression." *Psychoneuroendocrinology* 32 (4) (May): 407–410. doi:10.1016/j.psyneuen.2007.01.009.
- Schmidt, Karen L, and Jeffrey F Cohn. 2001. "Human Facial Expression as Adaptation: Evolutionary Questions in Facial Expression Research." *Amj Phys Anthropol.* Suppl 33: 3–24.
- Schultz, Robert T. 2005. "Developmental Deficits in Social Perception in Autism: The Role of the Amygdala and Fusiform Face Area." *International Journal of Developmental Neuroscience* 23 (2–3) (April): 125–141. doi:10.1016/j.ijdevneu.2004.12.012.
- Sharot, Tali. 2011. "The Optimism Bias." *Current Biology: CB* 21 (23) (December 6): R941–5. doi:10.1016/j.cub.2011.10.030.
- Sharot, Tali, Alison M Riccardi, Candace M Raio, and Elizabeth a Phelps. 2007. "Neural Mechanisms Mediating Optimism Bias." *Nature* 450 (7166) (November 1): 102–5. doi:10.1038/nature06280.
- Skrundz, Marta, Margarete Bolten, Irina Nast, Dirk H. Hellhammer, and Gunther Meinlschmidt. 2011. "Plasma Oxytocin Concentration During Pregnancy Is Associated with Development of Postpartum Depression." *Neuropsychopharmacology* 36 (9): 1886–1893. doi:10.1038/npp.2011.74.
- Skuse, David H, and Louise Gallagher. 2009. "Dopaminergic-neuropeptide interactions in the social brain." *Trends in cognitive sciences* 13 (1) (January): 27–35. doi:10.1016/j.tics.2008.09.007.
- Smith, E R, J Murphy, and S Coats. 1999. "Attachment to groups: theory and measurement." *Journal of personality and social psychology* 77 (1) (July): 94–110.
- Sofroniew, M.V. 1983. "Morphology of Vasopressin and Oxytocin Neurones and Their Central and Vascular Projections." In *Progress in Brain Research*, edited by B.A. Cross and G. Leng, Volume 60:101–114. Elsevier. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0079612308643782>.
- Sripada, Chandra Sekhar, K. Luan Phan, Izelle Labuschagne, Robert Welsh, Pradeep J. Nathan, and Amanda G. Wood. 2012. "Oxytocin Enhances Resting-state Connectivity Between Amygdala and Medial Frontal Cortex." *The International Journal of Neuropsychopharmacology* 16 (02) (May 30): 255–260. doi:10.1017/S1461145712000533.
- Stoop, Ron. 2012a. "Neuromodulation by Oxytocin and Vasopressin." *Neuron* 76 (1) (October 4): 142–159. doi:10.1016/j.neuron.2012.09.025.
- . 2012b. "Neuromodulation by Oxytocin and Vasopressin." *Neuron* 76 (1) (October 4): 142–159. doi:10.1016/j.neuron.2012.09.025.
- Szeto, A., P. M. McCabe, D. A. Nation, B. A. Tabak, M. A. Rossetti, M. E. McCullough, N. Schneiderman, and A. J. Mendez. 2011. "Evaluation of Enzyme Immunoassay and Radioimmunoassay Methods for the Measurement of Plasma Oxytocin." *Psychosomatic Medicine* 73 (5) (June 2): 393–400. doi:10.1097/PSY.0b013e31821df0c2.
- Szeto, Angela, Philip M McCabe, Daniel A Nation, Benjamin A Tabak, Maria A Rossetti, Michael E McCullough, Neil Schneiderman, and Armando J Mendez. 2011. "Evaluation of enzyme immunoassay and radioimmunoassay methods for the measurement of plasma oxytocin." *Psychosomatic medicine* 73 (5) (June): 393–400. doi:10.1097/PSY.0b013e31821df0c2.
- Takagi, T, O Tanizawa, Y Otsuki, N Sugita, M Haruta, and K Yamaji. 1985. "Oxytocin in the Cerebrospinal Fluid and Plasma of Pregnant and Nonpregnant Subjects." *Hormone and*

Metabolic Research = Hormon- Und Stoffwechselforschung = Hormones Et Métabolisme 17 (6) (June): 308–310. doi:10.1055/s-2007-1013526.

- Takeda, S, Y Kuwabara, and M Mizuno. 1985. “Effects of Pregnancy and Labor on Oxytocin Levels in Human Plasma and Cerebrospinal Fluid.” *Endocrinologia Japonica* 32 (6) (December): 875–880.
- Thielen, R J, N B Fangon, and A Frazer. 1996. “4-(2'-Methoxyphenyl)-1-[2'-[N-(2'-pyridinyl)-p-iodobenzamido]ethyl] Piperazine and 4-(2'-methoxyphenyl)-1-[2'-[N-(2'-pyridinyl)-p-Fluorobenzamido]ethyl]piperazine, Two New Antagonists at Pre- and Postsynaptic serotonin-1A Receptors.” *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 277 (2) (May): 661–670.
- Tops, Mattie, Femke T. A. Buisman-Pijlman, Maarten A. S. Boksem, and Albertus A. Wijers. 2012. “Cortisol-induced Increases of Plasma Oxytocin Levels Predict Decreased Immediate Free Recall of Unpleasant Words.” *Frontiers in Psychopharmacology* 3: 43. doi:10.3389/fpsy.2012.00043.
- Tops, Mattie, Jacobien M van Peer, Jakob Korf, Albertus A Wijers, and Don M Tucker. 2007. “Anxiety, Cortisol, and Attachment Predict Plasma Oxytocin.” *Psychophysiology* 44 (3) (May): 444–449. doi:10.1111/j.1469-8986.2007.00510.x.
- Tordjman, S, L Gutknecht, M Carlier, E Spitz, C Antoine, F Slama, V Carsalade, et al. 2001. “Role of the serotonin transporter gene in the behavioral expression of autism.” *Molecular psychiatry* 6 (4) (July): 434–439. doi:10.1038/sj.mp.4000873.
- Tottenham, Nim, James W Tanaka, Andrew C Leon, Thomas McCarry, Marcella Nurse, Todd a Hare, David J Marcus, Alissa Westerlund, B J Casey, and Charles Nelson. 2009. “The NimStim Set of Facial Expressions: Judgments from Untrained Research Participants.” *Psychiatry Research* 168 (3) (August 15): 242–9.
- Uddin, Lucina Q, and Vinod Menon. 2009. “The anterior insula in autism: under-connected and under-examined.” *Neuroscience and biobehavioral reviews* 33 (8) (September): 1198–1203. doi:10.1016/j.neubiorev.2009.06.002.
- Uvnäs-Moberg, K, E Bjökstrand, V Hillegaart, and S Ahlenius. 1999. “Oxytocin as a Possible Mediator of SSRI-induced Antidepressant Effects.” *Psychopharmacology* 142 (1) (February): 95–101.
- Uvnäs-Moberg, Kerstin. 1998. “Antistress Pattern Induced by Oxytocin.” *Physiology* 13 (1) (February 1): 22–25.
- Uvnäs-Moberg, Kerstin, and Maria Petersson. 2005. “[Oxytocin, a Mediator of Anti-stress, Well-being, Social Interaction, Growth and Healing].” *Zeitschrift Für Psychosomatische Medizin Und Psychotherapie* 51 (1): 57–80.
- Varnäs, Katarina, Christer Halldin, and Håkan Hall. 2004. “Autoradiographic Distribution of Serotonin Transporters and Receptor Subtypes in Human Brain.” *Human Brain Mapping* 22 (3) (July): 246–260. doi:10.1002/hbm.20035.
- Veening, Jan G, Trynke de Jong, and Henk P Barendregt. 2010a. “Oxytocin-messages via the cerebrospinal fluid: behavioral effects; a review.” *Physiology & behavior* 101 (2) (September 1): 193–210. doi:10.1016/j.physbeh.2010.05.004.
- DU VIGNEAUD, V, C RESSLER, and S TRIPPETT. 1953. “The sequence of amino acids in oxytocin, with a proposal for the structure of oxytocin.” *The Journal of biological chemistry* 205 (2) (December): 949–957.

- Volkmar, F R, D J Cohen, J D Bregman, M Y Hooks, and J M Stevenson. 1989. "An examination of social typologies in autism." *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry* 28 (1) (January): 82–86. doi:10.1097/00004583-198901000-00015.
- Walz, NC, and BA Benson. 1996. "Labeling and Discrimination of Facial Expressions by Aggressive and Nonaggressive Men with Mental Retardation." *American Journal on Mental Retardation* 101 282–291.
- West, Lis, Susan H Brunssen, and Julee Waldrop. 2009. "Review of the evidence for treatment of children with autism with selective serotonin reuptake inhibitors." *Journal for specialists in pediatric nursing: JSPN* 14 (3) (July): 183–191. doi:10.1111/j.1744-6155.2009.00196.x.
- Whitaker-Azmitia, P M. 2001. "Serotonin and brain development: role in human developmental diseases." *Brain research bulletin* 56 (5) (November 15): 479–485.
- Whitaker-Azmitia, Patricia M. 2005. "Behavioral and Cellular Consequences of Increasing Serotonergic Activity During Brain Development: a Role in Autism?" *International Journal of Developmental Neuroscience* 23 (1) (February): 75–83. doi:10.1016/j.ijdevneu.2004.07.022.
- Williams, Jessie R., Thomas R. Insel, Carroll R. Harbaugh, and C. Sue Carter. 1994. "Oxytocin Administered Centrally Facilitates Formation of a Partner Preference in Female Prairie Voles (*Microtus Ochrogaster*)." *Journal of Neuroendocrinology* 6 (3): 247–250. doi:10.1111/j.1365-2826.1994.tb00579.x.
- Williams, K E, D L Chambless, and A Ahrens. 1997. "Are Emotions Frightening? An Extension of the Fear of Fear Construct." *Behaviour Research and Therapy* 35 (3) (March): 239–48.
- Williams, Leanne M, Belinda J Liddell, Jennifer Rathjen, Kerri J Brown, Jeffrey Gray, Mary Phillips, Andy Young, and Evian Gordon. 2004. "Mapping the Time Course of Nonconscious and Conscious Perception of Fear: An Integration of Central and Peripheral Measures." *Human Brain Mapping* 21 (2) (February): 64–74.
- Windle, R J, N Shanks, S L Lightman, and C D Ingram. 1997a. "Central oxytocin administration reduces stress-induced corticosterone release and anxiety behavior in rats." *Endocrinology* 138 (7) (July): 2829–2834.
- Winslow, James T, Pamela L Noble, Casie K Lyons, Sheila M Sterk, and Thomas R Insel. 2003. "Rearing Effects on Cerebrospinal Fluid Oxytocin Concentration and Social Buffering in Rhesus Monkeys." *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology* 28 (5) (May): 910–918. doi:10.1038/sj.npp.1300128.
- Wotjak, C.T., J. Ganster, G. Kohl, F. Holsboer, R. Landgraf, and M. Engelmann. 1998. "Dissociated Central and Peripheral Release of Vasopressin, but Not Oxytocin, in Response to Repeated Swim Stress: New Insights into the Secretory Capacities of Peptidergic Neurons." *Neuroscience* 85 (4) (August): 1209–1222. doi:10.1016/S0306-4522(97)00683-0.
- Yamasue, Hidenori, Jason R Yee, René Hurlmann, James K Rilling, Frances S Chen, Andreas Meyer-Lindenberg, and Heike Tost. 2012. "Integrative approaches utilizing oxytocin to enhance prosocial behavior: from animal and human social behavior to autistic social dysfunction." *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience* 32 (41) (October 10): 14109–14117. doi:10.1523/JNEUROSCI.3327-12.2012.
- Yan, W, C C Wilson, and J H Haring. 1997. "Effects of neonatal serotonin depletion on the development of rat dentate granule cells." *Brain research. Developmental brain research* 98 (2) (February 20): 177–184.

- Ylisaukko-oja, Tero, Maricela Alarcón, Rita M Cantor, Mari Auranen, Raija Vanhala, Elli Kempas, Lennart von Wendt, Irma Järvelä, Daniel H Geschwind, and Leena Peltonen. 2006. "Search for autism loci by combined analysis of Autism Genetic Resource Exchange and Finnish families." *Annals of neurology* 59 (1) (January): 145–155. doi:10.1002/ana.20722.
- Yoshida, Masahide, Yuki Takayanagi, Kiyoshi Inoue, Tadashi Kimura, Larry J Young, Tatsushi Onaka, and Katsuhiko Nishimori. 2009. "Evidence That Oxytocin Exerts Anxiolytic Effects via Oxytocin Receptor Expressed in Serotonergic Neurons in Mice." *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 29 (7) (February 18): 2259–2271. doi:10.1523/JNEUROSCI.5593-08.2009.
- Young, Larry J, and Zuoxin Wang. 2004. "The neurobiology of pair bonding." *Nature neuroscience* 7 (10) (October): 1048–1054. doi:10.1038/nn1327.
- Zafeiriou, D I, A Ververi, and E Vargiami. 2009. "The serotonergic system: its role in pathogenesis and early developmental treatment of autism." *Current neuropharmacology* 7 (2) (June): 150–157. doi:10.2174/157015909788848848.
- Zak, Paul J, Robert Kurzban, and William T Matzner. 2004. "The neurobiology of trust." *Annals of the New York Academy of Sciences* 1032 (December): 224–227. doi:10.1196/annals.1314.025.
- . 2005a. "Oxytocin is associated with human trustworthiness." *Hormones and behavior* 48 (5) (December): 522–527. doi:10.1016/j.yhbeh.2005.07.009.
- Zak, Paul J, Angela A Stanton, and Sheila Ahmadi. 2007. "Oxytocin increases generosity in humans." *PloS one* 2 (11): e1128. doi:10.1371/journal.pone.0001128.
- Zak, Paul J., Robert Kurzban, and William T. Matzner. 2005b. "Oxytocin Is Associated with Human Trustworthiness." *Hormones and Behavior* 48 (5) (December): 522–527. doi:10.1016/j.yhbeh.2005.07.009.
- Zhuang, Z P, M P Kung, S Chumpradit, M Mu, and H F Kung. 1994. "Derivatives of 4-(2'-methoxyphenyl)-1-[2'-(N-2"-pyridinyl-p-iodobenzamido)ethyl]piperazine (p-MPPI) as 5-HT1A Ligands." *Journal of Medicinal Chemistry* 37 (26) (December 23): 4572–4575.
- Zimmer, Luc, Latifa Rbah, Fabrice Giacomelli, Didier Le Bars, and Bernard Renaud. 2003. "A Reduced Extracellular Serotonin Level Increases the 5-HT1A PET Ligand 18F-MPPF Binding in the Rat Hippocampus." *Journal of Nuclear Medicine: Official Publication, Society of Nuclear Medicine* 44 (9) (September): 1495–1501.

ANNEXES

A. ANNEXE I: FONCTIONNEMENT SOCIAL DANS L'AUTISME

Social Functioning in Autism

Nadia Merhoum, Flavia Mengarelli, **Raphaëlle Mottolese**, Elissar Andari, Angela Sirigu

Abstract

Autism spectrum disorder (ASD) includes a family of neurodevelopmental disorders with very early onset that affect many aspects of behavior and cognition. In particular, it refers to a set of deficiencies concerning three major domains such as social functioning, communication and stereotyped behavior (1). Given the importance of the ability to interact with others in daily life, social functioning impairment in ASD received much attention from different research domains and is considered as a core characteristic of this pathology. Understanding how autism affects social functioning development at both behavioral and neural level is crucial to conceive effective and early intervention to improve social and communicative skills in individuals suffering from this pathology. In the next sections we will focus on the several and different aspects of social functioning impairments in ASD by reviewing the literature on this topic. Successively we will discuss the important role of the natural hormone oxytocin in social behavior and its therapeutic potential for autism.

Social functioning in Autism

Social functioning includes a set of abilities essential to behave in accord to other co-specifics and to interact with them. The degree to which such processes work successfully determines the well being of humans subjects (2). In individuals suffering from ASD these abilities are severely impaired and many are the aspects of social functioning in which they differ from age-matched controls. Although subjected to strong individual differences all people with autism present a deficiency in understanding social situations, in inferring others emotional states and prevalently in social attention behaviors.

Previous research showed that social attention holds a key role for the acquisition of communicative and social skills (3). Since the first weeks after birth infants exhibit particular attraction towards all kind of social stimuli such as people, as well as human sounds, movements or faces (4). Over time they improve their ability to attend social interactions and increase sensitivity to respond even to small eye gaze's variations of their interlocutor (Symons L.A., Hains S.M.J., et Muir D.W. 1998). This behavior is defined as social orienting, namely the natural tendency to direct attention toward social stimuli (6). Some authors previously argued that a good development of social cognition especially rely on this propensity to social attention (4). The lack of attention and response to social stimuli such as human voice or eye gaze in the early childhood, constitute one of the core symptoms of Autism. Such basic deficiencies probably contribute to the development of social impairment later in life.

Examining the literature on spontaneous social attention in ASD, it appears that unlike healthy controls children with autism do not show such propensity. Indeed, autistic children were reported to be less likely to look preferentially towards social stimuli than controls even when stimulated with name calling or hand clapping (7). This deficit seems to last throughout life.

For instance, young adults with ASD display critical malfunction concerning sensitivity to human movements compared to healthy controls (8). Strictly connected to social orienting is joint attention, referred to as the ability "*to coordinate attention between interactive social partners with respect to objects or events in order to share awareness of the objects or events*" (9). The ability of humans to orient the gaze toward another individual, a specific location or an object of interest can be seen as a behavior of joint attention (10). Socially speaking, eyes have a special power: gaze behavior provides fundamental mechanisms for sharing mental states such as goals and desires and may constitute the ground for communication with others. Since people often look at what they attend to and where they intend to act, joint attention is considered essential to understand others' beliefs and intentions and to develop a theory of mind. Previous studies clearly demonstrated joint attention to be impaired in children with ASD (for review see 11) and incorporated it in the diagnostic criteria for autism (1). Experimental evidence showed that individuals with autism do not orient attention automatically in response to gaze direction and that they are not sensitive to eyes movements conveying relevant social information (12,13). A study from Dawson and colleagues (14) examined several domains of social attention, and designated joint attention as the most effective discriminator of autism from typical development and other mental retardation by classifying correctly 83% of children with ASD only on the basis of their performance in joint attention tasks. The impairment in joint attention behavior is

suggested to derive from difficulty of individuals with autism to pay attention to social stimuli and in particular to their tendency to avoid eye contact. In line with this, ASD patients result to be deficient in another fundamental area of social cognition such as processing of facial information, crucial for the development of affective and pro social behavior. The face is our primary source of biological and social characteristics such as gender, identity and affective state (15). Facial expressions typically contain cues that allow not only to quickly understanding others' emotional states but also to react promptly to external stimuli in order to modulate our behavior accordingly. Typical developing children learn from very early ages to distinguish different emotional expressions in adults (e.g. neutral, happy, fearful) and to respond according to them. On the contrary it has been argued that people affected by autism do not process faces as typical developing individuals do (16). Behavioral evidences have shown that, when adults display facial emotional expression, children with autism look less at the adult's face and exhibit less concern compared to healthy controls and to children with mental retardation (6). The eye-tracking methodology, particularly valuable in the study of social attention, proved that performance of both children and adults suffering from ASD in tasks requiring recognition of race, sex or facial expressions (17) were significantly poorer compared to normal subjects and demonstrated a deficit in emotion recognition in these patients (18). This has been suggested to occur because when presented with a face individuals with autism have the tendency to attend selectively to the mouth rather than to the eyes (16, 19). In line with this, Pelphrey and colleagues (18) demonstrate that patients with ASD display an abnormal scanning of faces. Testing the visual ability to process faces of adults diagnosed with high-functioning autism, these authors showed that patients scan core feature areas of faces such as eyes, nose and mouth significantly less often than controls whereas they spend significantly more time in inspecting irrelevant areas of the human face. This pattern of behavior is also confirmed by another interesting study that used eye-tracking methodology during social scenes simulating daily experience (20). The authors found reduced eye region fixation time to be the best predictor of autism compared to other regions or objects. A possible explanation of this impairment in social attention behavior in autism is provided by neuroimaging studies. Social brain theories suggest that the visual system is naturally set for the analysis of social relevant information and indicated the superior temporal gyrus (STS) and fusiform gyrus (FFA) as core regions for this function (21). Studies investigating neural substrates of autism confirmed behavioral findings by reporting functional and structural abnormalities in the so-called social brain regions in ASD. Abnormalities in the volume of grey matter in the STS and FFA has been shown in the brain of individuals with autism (for review (11)). Pelphrey and colleagues (2) found that activity in the STS of these individuals did not increase for incongruent versus congruent eye gaze's shift differently from controls. Other studies showed decreased activation of FFA relative to controls during social perception task such as detection of sex or emotional face expressions (22).

Patients with autism have also anatomical and functional anomalies in a brain region implicated in the control of stress and emotion processing, namely, the amygdala (23). Indeed, social impairments in autism are often combined with stress and social anxiety which reinforce the difficulties of these

patients to create social links (24). Not only adults but also children with autism display significantly higher anxiety than controls (25). This symptom was suggested to be linked to amygdala dysfunctions in autism (26). That was confirmed by an fMRI study showing that social anxiety was associated with an increased amygdala activity (27). Furthermore, a recent study demonstrated that manipulation of eye-gaze potentiated amygdala response in individual with autism that already display higher amygdala activity compared to the control group (28).

Therefore, individuals with autism exhibit crucial social impairments linked to dysfunctions in social brain regions including the amygdala, a key structure of emotion processing and known to be a strategic target of oxytocin action, a hormone which has a strong neuromodulatory function on social behavior. Recent studies have begun to focus their attention on the role of oxytocin in the social impairments of autism.

Oxytocin and autism

Oxytocin from Greek means “quick birth” (29). Oxytocin is a nine amino acids peptide (nonapeptide Oxytocin), synthesized in the paraventricular (PVN) and supraoptic (SON) nucleus of the hypothalamus (30) and released in the peripheral circulation from the neurohypophysis through the posterior pituitary gland (31). Oxytocin is best known for its peripheral action as a neurohormone during lactation and parturition (32) but it acts also as a peptidergic neurotransmitter directly in the brain (31).

Animal studies revealed that oxytocin receptors are distributed in various brain regions implicated in maternal behavior, parental care, pair bonding and affiliation (33). Consistently it has been suggested that Oxytocin may be implicated in neuronal mechanisms underpinning social behavioral functions. Indeed this neuropeptide has been shown to participate to the regulation of mother-offspring recognition and bonding in sheep (34), to improve social recognition (35) and when administered to induce maternal behavior in virgin female rats (36).

Given the clear implication of Oxytocin in the physiology of animal social behavior, researchers started to drive their attention to the Oxytocin effects in human behavior. Several manipulation of Oxytocin level in the human brain confirmed the implication of this peptide in the expression of human affiliative social behavior. For instance, studies using intranasal administration in humans demonstrated that Oxytocin improves our attitude to trust others (37), increases facial trustworthiness (38) and promotes social motivation (39). Furthermore, individuals under the effect of Oxytocin were shown to spend more time looking at the eyes regions (40) and demonstrated an improvement in inferring others mental state from facial cues (41). Crucially, Oxytocin seems to play a pivotal role in many aspects of social functioning that are impaired in people suffering from Autism. For this reason recently research has begun to focus attention on the possible implication of the oxytocinergic system in the social dysfunctions characterizing this pathology.

After measuring Oxytocin plasma level, Modhal and collaborators found significantly lower level in the blood of patients with autism compared to healthy controls (42). In addition, Green and collaborators found that oxytocin plasma deficit in children with autism was due to a dysfunction in the oxytocin peptide processing (43). All these evidence suggest abnormalities of the oxytocinergic system to be strongly implicated in the physiology of autism.

Support of the involvement of Oxytocin in Autistic Spectrum disorder comes also from genetic studies. Indeed, Oxytocin receptor gene polymorphism seems to be implicated in the development of the autistic pathology (44). The region of chromosome 3, where oxytocin receptor gene is located, is a likely loci for autism (45). Consistently, Jacobs and colleagues showed an association between Oxytocin receptor gene and Autism dysfunction in a sample of Caucasian population (46). Additionally, a recent study revealed that oxytocin receptor knockout (KO) mice display social impairments consistent with those characterizing autism (47). Compared to wild type oxytocin receptor KO mice spend more time alone, and shows decreased frontal approach and allo-grooming.

One question that has been raised from all of these findings supporting the implication of Oxytocin in Autism pathology concerns the therapeutic potential of this peptide. Can Oxytocin administration to patients with autism recover their social deficits (for review see 48)?

The results obtained in our laboratory go in this direction. In a study conducted by Andari and colleagues (19) with participants with autism and healthy controls we assessed the effect of intranasal administration of oxytocin on eye-movements during face scanning and during a social interactive game. Thirteen patients with high functioning autism were tested and compared to a placebo condition and to age matched healthy controls. We also measured plasma Oxytocin levels before and after nasal spray intake. Participants performed two different behavioral tasks. The first was a social interaction game adapted from the Cyberball game (49). During this task participants participated in a multi round ball-toss game played through a computer network with three fictitious partners. In the game we manipulated the social profile of the fictional players so that each of the three players was associated to a different probability to throw the ball to the participant corresponding to a variable degree of cooperation. Following this procedure we obtained a good, bad and a neutral behavior profile. We evaluated the ability of participants to understand partners' behavior by examining their ball-toss choices. We found that whereas healthy subject discriminated the profile of the three players and throw the ball significantly more often to the good and cooperative player, patients under placebo did not distinguish between the three different players behavior. However, after oxytocin intake patients with ASD played more often with the good partner compared to the bad and the neutral, thus behaving more close to control subjects behavior.

In a second task patients' eye-movements were recorded while perceiving human faces presented on a computer screen. Patients had to report either the gender (male/female) or the gaze direction (directed/averted) of the depicted face stimulus. Consistently with previous literature we found that patients under placebo spent significantly less time looking directly at faces relative to healthy

participants and they specifically avoided the eye region. On the contrary under Oxytocin administration patients gazed longer at faces and particularly on the eye region.

This pattern was associated with a decrease in saccades frequency suggesting that Oxytocin may reduce anxiety induced by facial stimuli in these patients (19). These results are of particular interest because, in accordance with previous literature (40) show the effect of Oxytocin in overturning one of the core symptoms of Autism, namely the lack of eye contact and support its therapeutic potential for this disorder. These findings therefore demonstrate that under oxytocin patients were able to process and integrate social relevant cues and to act in an appropriate manner. By suppressing fear and anxiety oxytocin might have thus facilitated cooperation in individual with autism. In accordance with previous finding showing that Oxytocin can improve social recognition and memory (35) we also suggest that Oxytocin may mediate cooperation by specifically enhancing memory for social contexts and faces. Further investigations are necessary on this research direction. Our findings are in keeping with recent results reported by Guastella and collaborators showing that young patients suffering from autism under the effect of Oxytocin significantly improve their performance in emotion recognition (40), thus reinforcing our hypothesis on the critical role played by Oxytocin as a possible treatment for the social dysfunctions in autism.

To date, the major results concerning Oxytocin effects on social behavior were obtained from studies using a single dose of oxytocin in adults. Only few studies have investigated the long term consequences of Oxytocin administration at the behavioral and neural level. Testing the long term effect of oxytocin intake in eight early adolescents with autism spectrum disorders Tachibana and colleagues (50) found improved scores in communication and social interaction using the ADOS-G, a well known test of socio-communicative behaviors. No negative side effects were reported oxytocin. Nevertheless a recent study in rats, has shown that chronic intake of oxytocin in early life lead to behavioral consequences in adulthood such as increased aggressivity and diminished social recognition (for complete review see (51)). These findings suggest that long lasting oxytocin administration in children must be done cautiously and that deep investigations are needed to better understand the long term effects of this molecule.

Investigation of oxytocin system in Autism may be crucial not only to provide therapeutic interventions for this pathology but also to add fundamental knowledge of social brain functioning in general. Thus, ASD may represent the bridge between basic neuroscience research and clinical practice to better understand human social abilities.

References

1. Association AP. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition: DSM-IV-TR®. American Psychiatric Pub; 2000.
2. Pelphrey KA, Carter EJ. Brain mechanisms for social perception: lessons from autism and typical development. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* déc 2008;1145:283–299.
3. Carpenter M, Nagell K, Tomasello M. Social cognition, joint attention, and communicative competence from 9 to 15 months of age. *Monogr. Soc. Res. Child Dev.* 1998;63(4):i–vi, 1–143.
4. Rochat P, Querido JG, Striano T. Emerging sensitivity to the timing and structure of protoconversation in early infancy. *Dev. Psychol.* juill 1999;35(4):950–957.
5. Symons L.A., Hains S.M.J., Muir D.W. Look at me: five-month-old infants' sensitivity to very small deviations in eye-gaze during social interactions. *Infant Behav. Dev.* 1998;21(3):531–536.
6. Dawson G, Meltzoff AN, Osterling J, Rinaldi J, Brown E. Children with autism fail to orient to naturally occurring social stimuli. *J. Autism Dev. Disord.* déc 1998;28(6):479–485.
7. Osterling J, Dawson G. Early recognition of children with autism: a study of first birthday home videotapes. *J. Autism Dev. Disord.* juin 1994;24(3):247–257.
8. Kaiser MD, Delmolino L, Tanaka JW, Shiffrar M. Comparison of visual sensitivity to human and object motion in autism spectrum disorder. *Autism Res. Off. J. Int. Soc. Autism Res.* août 2010;3(4):191–195.
9. Mundy P, Sigman M, Ungerer J, Sherman T. Defining the social deficits of autism: the contribution of non-verbal communication measures. *J. Child Psychol. Psychiatry.* sept 1986;27(5):657–669.
10. Dawson G, Bernier R, Ring RH. Social attention: a possible early indicator of efficacy in autism clinical trials. *J. Neurodev. Disord.* 2012;4(1):11.
11. Neuhaus E, Beauchaine TP, Bernier R. Neurobiological correlates of social functioning in autism. *Clin. Psychol. Rev.* août 2010;30(6):733–748.
12. Ristic J, Mottron L, Friesen CK, Iarocci G, Burack JA, Kingstone A. Eyes are special but not for everyone: the case of autism. *Brain Res. Cogn. Brain Res.* août 2005;24(3):715–718.
13. Kylliäinen A, Hietanen JK. Attention orienting by another's gaze direction in children with autism. *J. Child Psychol. Psychiatry.* mars 2004;45(3):435–444.
14. Fox E, Mathews A, Calder AJ, Yiend J. Anxiety and sensitivity to gaze direction in emotionally expressive faces. *Emot. Wash. Dc.* août 2007;7(3):478–486.
15. Rutherford MD, Clements KA, Sekuler AB. Differences in discrimination of eye and mouth displacement in autism spectrum disorders. *Vision Res.* juill 2007;47(15):2099–2110.
16. Deruelle C, Rondan C, Gepner B, Tardif C. Spatial frequency and face processing in children with autism and Asperger syndrome. *J. Autism Dev. Disord.* avr 2004;34(2):199–210.
17. Pelphrey KA, Sasson NJ, Reznick JS, Paul G, Goldman BD, Piven J. Visual scanning of faces in autism. *J. Autism Dev. Disord.* août 2002;32(4):249–261.
18. Andari E, Duhamel J-R, Zalla T, Herbrecht E, Leboyer M, Sirigu A. Promoting social behavior with oxytocin in high-functioning autism spectrum disorders. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2 mars 2010;107(9):4389–4394.
19. Klin A, Jones W, Schultz R, Volkmar F, Cohen D. Visual fixation patterns during viewing of naturalistic social situations as predictors of social competence in individuals with autism. *Arch. Gen. Psychiatry.* sept 2002;59(9):809–816.
20. Brothers L. The social brain: A project for integrating primate behavior and neurophysiology in a new domain. *Concepts Neurosci.* 1990;1:27–51.
21. Pelphrey KA, Morris JP, McCarthy G, Labar KS. Perception of dynamic changes in facial affect and identity in autism. *Soc. Cogn. Affect. Neurosci.* juin 2007;2(2):140–149.
22. Schultz RT. Developmental deficits in social perception in autism: the role of the amygdala and fusiform face area. *Int. J. Dev. Neurosci.* avr 2005;23(2–3):125–141.
23. Bellini S. The Development of Social Anxiety in Adolescents With Autism Spectrum Disorders. *Focus Autism Dev. Disabil.* 1 août 2006;21(3):138–145.

24. Gillott A, Furniss F, Walter A. Anxiety in high-functioning children with autism. *Autism Int. J. Res. Pr.* sept 2001;5(3):277–286.
25. Baron-Cohen S, Ring HA, Bullmore ET, Wheelwright S, Ashwin C, Williams SCR. The amygdala theory of autism. *Neurosci. Biobehav. Rev.* mai 2000;24(3):355–364.
26. Kleinmans NM, Richards T, Weaver K, Johnson LC, Greenson J, Dawson G, et al. Association between amygdala response to emotional faces and social anxiety in autism spectrum disorders. *Neuropsychologia.* oct 2010;48(12):3665–3670.
27. Tottenham N, Hertzog ME, Gillespie-Lynch K, Gilhooly T, Millner AJ, Casey BJ. Elevated amygdala response to faces and gaze aversion in autism spectrum disorder. *Soc. Cogn. Affect. Neurosci.* 16 avr 2013;
28. Dale HH. On some physiological actions of ergot. *J. Physiol.* 31 mai 1906;34(3):163–206.
29. Moos F, Richard P. Paraventricular and supraoptic bursting oxytocin cells in rat are locally regulated by oxytocin and functionally related. *J. Physiol.* janv 1989;408:1–18.
30. Bealer SL, Armstrong WE, Crowley WR. Oxytocin release in magnocellular nuclei: neurochemical mediators and functional significance during gestation. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* août 2010;299(2):R452–458.
31. Insel TR, Young L, Wang Z. Central oxytocin and reproductive behaviours. *Rev. Reprod.* janv 1997;2(1):28–37.
32. Young LJ, Wang Z. The neurobiology of pair bonding. *Nat. Neurosci.* oct 2004;7(10):1048–1054.
33. Kendrick KM, Da Costa AP, Broad KD, Ohkura S, Guevara R, Lévy F, et al. Neural control of maternal behaviour and olfactory recognition of offspring. *Brain Res. Bull.* 1997;44(4):383–395.
34. Ferguson JN, Young LJ, Hearn EF, Matzuk MM, Insel TR, Winslow JT. Social amnesia in mice lacking the oxytocin gene. *Nat. Genet.* juill 2000;25(3):284–288.
35. Pedersen CA, Ascher JA, Monroe YL, Prange AJ Jr. Oxytocin induces maternal behavior in virgin female rats. *Science.* 7 mai 1982;216(4546):648–650.
36. Kosfeld M, Heinrichs M, Zak PJ, Fischbacher U, Fehr E. Oxytocin increases trust in humans. *Nature.* 2 juin 2005;435(7042):673–676.
37. Theodoridou A, Rowe AC, Penton-Voak IS, Rogers PJ. Oxytocin and social perception: oxytocin increases perceived facial trustworthiness and attractiveness. *Horm. Behav.* juin 2009;56(1):128–132.
38. Feldman R. Oxytocin and social affiliation in humans. *Horm. Behav.* mars 2012;61(3):380–391.
39. Guastella AJ, Mitchell PB, Dadds MR. Oxytocin increases gaze to the eye region of human faces. *Biol. Psychiatry.* 1 janv 2008;63(1):3–5.
40. Domes G, Heinrichs M, Michel A, Berger C, Herpertz SC. Oxytocin improves « mind-reading » in humans. *Biol. Psychiatry.* 15 mars 2007;61(6):731–733.
41. Modahl C, Green L, Fein D, Morris M, Waterhouse L, Feinstein C, et al. Plasma oxytocin levels in autistic children. *Biol. Psychiatry.* 15 févr 1998;43(4):270–277.
42. Green L, Fein D, Modahl C, Feinstein C, Waterhouse L, Morris M. Oxytocin and autistic disorder: alterations in peptide forms. *Biol. Psychiatry.* 15 oct 2001;50(8):609–613.
43. Lerer E, Levi S, Salomon S, Darvasi A, Yirmiya N, Ebstein RP. Association between the oxytocin receptor (OXTR) gene and autism: relationship to Vineland Adaptive Behavior Scales and cognition. *Mol. Psychiatry.* oct 2008;13(10):980–988.
44. Ylisaukko-oja T, Alarcón M, Cantor RM, Auranen M, Vanhala R, Kempas E, et al. Search for autism loci by combined analysis of Autism Genetic Resource Exchange and Finnish families. *Ann. Neurol.* janv 2006;59(1):145–155.
45. Jacob S, Brune CW, Carter CS, Leventhal BL, Lord C, Cook EH Jr. Association of the oxytocin receptor gene (OXTR) in Caucasian children and adolescents with autism. *Neurosci. Lett.* 24 avr 2007;417(1):6–9.
46. Pobbe RLH, Pearson BL, Defensor EB, Bolivar VJ, Young WS 3rd, Lee H-J, et al. Oxytocin receptor knockout mice display deficits in the expression of autism-related behaviors. *Horm. Behav.* mars 2012;61(3):436–444.
47. Bartz JA, Hollander E. Oxytocin and experimental therapeutics in autism spectrum disorders. *Prog. Brain Res.* 2008;170:451–462.

48. Williams KD, Cheung CK, Choi W. Cyberostracism: effects of being ignored over the Internet. *J. Pers. Soc. Psychol.* nov 2000;79(5):748–762.
49. Tachibana M, Kagitani-Shimono K, Mohri I, Yamamoto T, Sanefuji W, Nakamura A, et al. Long-term administration of intranasal oxytocin is a safe and promising therapy for early adolescent boys with autism spectrum disorders. *J. Child Adolesc. Psychopharmacol.* mars 2013;23(2):123–127.
50. Carter CS. Developmental consequences of oxytocin. *Physiol. Behav.* août 2003;79(3):383–397.

B. ANNEXE II : INFLUENCE DE LA PERSONNALITE AGGRESSIVE SUR LA DISCRIMINATION DES EMOTIONS

Article soumis:

Aggressive traits of personality affect how we discriminate facial emotional expressions*

Flavia Mengarelli*, **Raphaëlle Mottolese***, Andres Posada, Giuseppe di Pellegrino and Angela Sirigu

**equally contributors*

**Cette étude est préliminaire, à une investigation similaire, utilisant les mêmes tâches chez les patients Autistes. N'ayant pour le moment pu réaliser que des analyses préliminaires sur ces données, nous avons choisi de présenter cette étude uniquement en ANNEXE, ne se rattachant qu'en partie au reste de la Thèse.*

Aggressive traits of personality affect how we discriminate facial emotional expressions

Flavia Mengarelli*, **Raphaëlle Mottolese***, Andres Posada, Giuseppe di Pellegrino and Angela Sirigu

**equally contributors*

Abstract

Facial expressions provide important social information. They typically contain cues that allow to quickly understanding others' emotional states. Previous studies have suggested that personality differences can influence the processing of emotions. The aim of the current study was to investigate the role of a particular trait of personality such as aggression in modulating how people recognize facial emotional expressions. To this end, we tested healthy participants with high and low levels of aggression in two different tasks of basic emotions recognition, using both static and dynamic stimuli. The results showed that aggressive traits of personality affect emotion recognition processes. In particular, we found that, despite a general impairment in emotion recognition, high aggressive people are more accurate and detect earlier fearful facial expressions compared to low aggressive people. Our results provide evidence that individual differences in personality traits are critical aspects for recognizing and interpreting human emotions.

Introduction

Emotions play an adaptive function and are critical in influencing our social interactions (Hext and Lunsky 1997). Recognizing an emotion allows us to react promptly to external stimuli and to modulate our behavior accordingly. Each emotion or group of emotions can influence behavior in different ways, and have a different impact on our state and on how we organize perception, cognition and action (Izard 1992).

It has been reported that individuals recognize emotions in others not only by using cues from facial expressions, but also from the posture of the body, language and tone of voice (Loveland et al. 1997). However, the majority of studies on emotion recognition used facial expressions as stimuli, because the face is considered to be the primary reservoir of information about biological and other social characteristics (gender, identity, age and emotional state, (Fox et al. 2007).

Some emotions, such as joy, fear or anger emerge during the earliest stages of life. They have their own distinct characteristics and serve specific functions. Fear, for example, has been described as a stimulus that allows to quickly communicating to co-specifics the presence of a negative or dangerous stimulus that should be avoided (Mineka and Cook 1993). Anger plays a similar adaptive role, by providing clear information on the source of the threat. Moreover, we can consider anger as a negative signal that discourages socially inappropriate and unexpected behavior (Averill 1983).

The expression of joy, on the contrary, provides a positive sign of cooperation and affiliation during social interactions (Schmidt and Cohn 2001), and has been shown to be the most easily recognized emotion, followed by sadness and anger (Matheson and Jahoda 2005; Walz and Benson 1996). This result, however, is in contrast with other studies showing that facial expression of anger were more easily recognized compared to expressions of joy and neutral expressions (Eastwood, Smilek, and Merikle 2001); (Ohman, Lundqvist, and Esteves 2001).

In spite of these divergences, all available literature agrees in sustaining the critical importance of emotions in life, from the adaptive role they hold, to their influence in development of personality, and in shaping cognitive processes and social interactions. There is evidence that the processing of emotions is influenced by several aspects, including personality. For example, a number of studies have shown that personality differences can influence the processing of emotions (for review see (Calder, Ewbank,

and Passamonti 2011). Studies that have used threat-related stimuli in individuals diagnosed with anxiety disorders (Mogg, Philippot, and Bradley 2004) and in non-clinical populations of individuals with low and high levels of anxiety (Bar-Haim et al. 2007) concluded that anxiety may influence the behavioral responses to cues that communicate threat. Similarly, Fox and colleagues (Fox, Russo, and Bowles 2001); (Fox and Russo 2005) have investigated the role of anxiety, measured by using self-reported questionnaires, as determinant factor in the selective processing of emotional expressions. Their results showed that attention was biased towards expressions of fear only in subjects with high levels of anxiety. Accordingly, Mogg and Bradley (Mogg and Bradley 1999) showed that participants with high levels of anxiety had a greater propensity to direct their attention to expressions of fear and anger.

Evidence regarding the influence of personality in the processing of emotions also comes from brain imaging studies (fMRI), which show that some personality dimensions may explain differences in neural responses to emotional stimuli. For instance, Canli and colleagues (Canli et al. 2001) found that, in response to positive and negative emotional facial expressions, extroversion and nervousness traits correlated with the variability in activity of the amygdala, a key region for the processing of emotions, especially negative ones.

Aggression, defined as overt behavior with the intention of inflicting physical damage to another individual (Nelson and Trainor 2007), is another important trait of personality, the influence of which has been less investigated compared to anxiety. Indeed, many studies concerning processing of emotions have investigated mainly anxiety and depression (K. E. Williams, Chambless, and Ahrens 1997), omitting the fact that aggression might be associated with a greater sensitivity to negative stimuli as threat-related ones. In this regard, one must note that traits of aggression in personality may lead people to respond differently to threatening stimuli, according to their personal interpretation. Van Honk and colleagues (Jack Van Honk et al. 2001) tested subjects with low and high levels of aggression in a version of a emotional Stroop task and found that individuals with low levels of aggression were facilitated in the task while subjects with a higher levels suffered an interference effect. In another study that used a pictorial emotional Stroop task, an attentional bias to masked angry faces only in individuals with traits of high aggression was shown (J Van Honk et al. 2000). Clinical populations

provide further evidence of the link between emotions and personality traits of aggression. For instance, Matheson and Jahoda (Matheson and Jahoda 2005) have investigated the ability to identify emotions in frequently aggressive and non-aggressive individuals with intellectual disability. Their results demonstrated that more aggressive participants had more difficulties, compared to less aggressive ones, in labeling emotions. The interaction between anxiety and aggression traits of personality in the reactivity to emotional facial expressions has also been investigated at the neural level through imaging techniques. Carré and colleagues (Carré et al. 2010) have shown that features of aggression are correlated with the activation of the amygdala but only in men with high levels of aggression and not in women. Consistently, other evidence shows that individuals with high levels of aggression expression showed an amplification of amygdala activity in response to representations of expressions of fear (Carlson, Greenberg, and Mujica-Parodi 2010).

The current study tested healthy subjects with high and low levels of aggression in two different tasks of recognition of basic emotions such as anger, fear and joy. The aim of this study was to investigate whether and how personality differences in the level of aggression may affect the ability to process distinct types of emotions. Two hypotheses are equally plausible: the first is that people that are more aggressive are also more used to experiencing anger, so they could be facilitated in recognizing negative emotions, such as anger, in others. In this case, we would expect participants with more aggressive personalities to be faster and more accurate in recognizing facial expressions of anger compared to other emotions. On the contrary, a second possibility is that people that are more prompted to aggression develop a form of insensitivity to emotions, particularly negative emotions like fear or anger. In this latter case we would expect recognition of emotional facial expressions, such as angry and fearful faces, to be impaired.

Most of the literature on emotion recognition based its findings on a static presentation of emotions such as photographs of emotional facial expressions (e.g. Ekman & Friesen, 1976). However this has attracted criticism, because static stimuli are considered to be too simple type of stimuli, lacking the dynamic and contextual cues of natural stimuli (D. G. Moore, Hobson, and Lee 1997). To avoid this problem, in the current study we used two different tasks, a morphing task, presenting emotional expressions that changed dynamically, and the backward masking task (Phillips et al. 2003; L. M.

Williams et al. 2004) featuring static images of emotional facial expressions followed by a neutral mask. Combining these two kinds of task allows us evaluating the importance of morphological information and contextual cues and at the same time controlling for the ability to detect emotional expressions at different levels of awareness.

Materials and Methods

Participants

34 subjects (14 females; mean age = 25.15, range: 19-32; mean years of education = 15.2, range: 8-18), recruited through posted advertisements, participated in the experiment. None of the participants reported neurological or psychiatric disorders. They had normal vision or corrected to normal vision. Participants remained naïve as to the purpose of the study until debriefing. All procedure conformed to national and institutional guidelines and to the Declaration of Helsinki.

In order to assess the level of aggression of participants, we used the 34-item Aggression Questionnaire (AQ, (Buss and Perry 1992). This is a validated measure of aggression, divided into four scales: Physical aggression, a measure of the tendency to use physical force when expressing anger or aggression; Verbal aggression, a measure of the tendency to be verbally argumentative; Anger, a measure of anger-related arousal and sense of control and Hostility, a measure of feelings of resentment, suspicion and alienation. The total score is the sum of the overall level of anger and aggression reported by the subject. Participants responded to each item by indicating on a scale from 0 (not at all like me) to 5 (completely like me) how much the sentence corresponded to her/him. Before starting the experiment, the tests were explained to participants. Indeed they were informed that they had to give an answer to each item, that there was no right nor wrong answer, and finally that there was no time limit for filling in the questionnaire.

Tasks

Morphing task - The stimuli used in the experiment were standardized color digital photographs of 16 faces (8 females and 8 males) selected from the NimStim Stimulus Set (Tottenham et al. 2009). Images included the following expressions, displayed by a variety of models: anger, happiness, fear and neutral

expression. For each expression, images were manipulated with Fantamorph5 software in order to create 30 intermediate images starting from neutral and progressively changing to a given emotional expression. This allowed us to create the morphing task in which participants were initially presented with a neutral face and each click of the subject corresponded to a slight change in the expression of the face. Participants were instructed to stop clicking as soon as they thought they could recognize an emotion, and were instructed to choose (forced-choice) among six possible alternatives: anger, fear, happiness, sadness, surprise and neutral. Each of these emotions corresponded to a number on the keyboard. Stimuli were displayed one at a time on a computer screen using Presentation software that also recorded the responses provided by participants. As dependent variables, the number of clicks that each emotion needed to be recognized (click %), and the number of correct responses (accuracy %) were recorded.

Backward Masking task – Stimuli comprised standardized photographs of six different individuals (three men and three women) depicting fear, anger, happiness and neutral expressions (Ekman & Friesen, 1976). In this procedure, participants were presented with target-mask pairs of images, depicting different emotional and neutral facial expressions. Fearful, angry, happy targets and neutral control expressions were presented followed by a mask neutral expression. Following each target-mask trial, subjects made a forced-choice decision about the target face expression (choosing among fear, anger, happy and neutral) by pressing a button, and a corresponding confidence rating (1–9 scale; 1 = ‘not at all confident’ to 9 = ‘extremely confident’). The latter served as a strict criterion for confirming the target face duration necessary for fully conscious (overt) perception of facial expressions. Time of target duration varied, while mask duration was stable during the experiment. We determined the point at which participants did not perform significantly differently from chance in discriminating fear from neutral, anger from neutral and happy from neutral. Each experimental session comprised 9 blocks of 24 target-mask pairs, randomized within subjects. Thus, the emotional target-mask pairs included fear-neutral, anger-neutral, and happy-neutral pairs. Moreover, a neutral-neutral pair was added as a control pair. Emotional targets and neutral controls appeared with equal frequency. The time interval between onset of the target and mask (SOA – Stimulus Onset Asynchrony) was manipulated between blocks (23,

36, 50, 63, 76, 90, 103, 116 or 130 ms) with an inter-stimulus interval between target and mask of 0 ms, so that mask onset was immediate. The duration of mask stimuli was fixed and lasted 220 ms and each trial was preceded by a fixation cross. The interval between successive target– mask pairs was 1sec. Dependent variables recorded in this task were response time (ms) and accuracy (%) for emotion recognition.

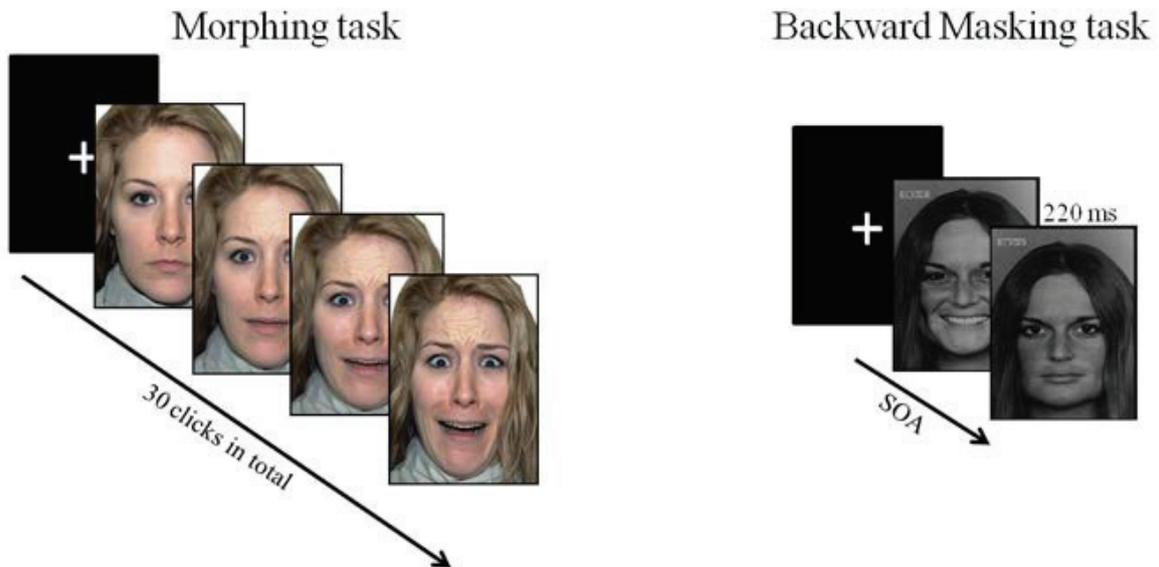


Figure 1. Schematic illustration of the time course of the two tasks.

Results

Morphing task

Percentage of clicks – Firstly, a one-way ANOVA on percentage of clicks necessary to recognize each emotion was conducted. We found a strongly significant difference between emotions [$F(3, 99) = 9.85$, $p < .001$]. Post hoc analysis (Newman-Keuls tests) showed happy facial expression to be the easiest expression to recognize (41%), significantly different from angry and fearful expressions ($p < .05$) but not from neutral expressions (43%). Percentage of clicks necessary to recognize anger (47%) and fear (53%) expressions also differed each other ($p < .05$). Subsequently, we explored the possibility that response patterns varied among participants, based on their level of aggression. Therefore, we divided participants in high and low traits of aggression based on their score in the AQ (Buss and Perry 1992). Thus, we calculated the median score (70): participants who obtained a score higher than the median

value were assigned to the high AQ group ($n=16$), and those who had a score lower than the median value were assigned to the Low AQ group ($n=15$). Participants who obtained a score equal to the median value were excluded from this analysis, so that 3 subjects were excluded. A 2 (Group: Low vs. High) x 3 (Emotion: Anger vs. Fear vs. Happy) ANOVA on percentage of clicks showed a significant main effect of Group [$F(1, 29) = 7.60, p = .01$], a significant main effect of Emotion [$F(2, 58) = 33.55, p < .0001$] but no significant interaction Group x Emotion ($p=.09$). As we focused on influence of personality in emotion recognition, neutral expressions were not considered in this analysis.

Post hoc analyses on the main effects showed that participants in the Low AQ group needed significantly less morphological features to recognize emotions in general compared to participants in the High AQ group (40% vs. 52% of clicks, $p = .01$). Moreover, as in the general analysis, Newman-Keuls test on the main effect of emotion showed that fear required more morphological characteristics (53%) to be recognized compared to anger (47%) and happiness (40%) expressions ($p < .001$ in both cases). Angry and happy facial expressions also differed from each other ($p < .01$). These results indicate that aggression traits of personality make people less sensitive to discriminating emotional expressions.

Percentage of Correct responses (Accuracy) - We performed the same pattern of analyses as above for the participants' performance accuracy. The general one way ANOVA on Emotion (Anger vs. Fear vs. Happy vs. Neutral) showed a significant difference [$F(3, 99) = 42.78, p < .00001$] in accuracy in detecting the three emotions. Specifically, the Newman-Keuls test found that the highest accuracy concerned happy facial expressions (91%), followed by expressions of Anger (82%), and Fear (65%). All of the expressions showed significant differences from each other (all $p < .01$) and from neutral, which showed the highest accuracy rates (99%). As before, we conducted an analysis that compared accuracy rates in recognition of happy, angry and fearful expressions in the Low and High AQ groups. Results showed a main effect of emotion according to which participants had the highest accuracy in detecting happy faces followed by angry and fearful expressions. Accuracy rates for expressions of fear showed to be significantly lower compared to expression of anger and happiness ($p < .01$), while anger and happiness did not differ from each other. There was a marginally significant main effect of group (p

= .05). Participants in the High AQ group resulted to be slightly more accurate in recognizing emotions compared to those in the Low AQ group (84 % vs. 77 %). Interestingly, the analysis showed a strongly significant Emotion x Group interaction [$F(2, 58) = 6.95, p = .001$]. Post hoc analyses indicated that Low and High AQ groups differed only in detecting fear facial expressions with significantly lower accuracy for fear recognition in Low AQ participants compared to all other conditions ($p < .001$ in all cases).

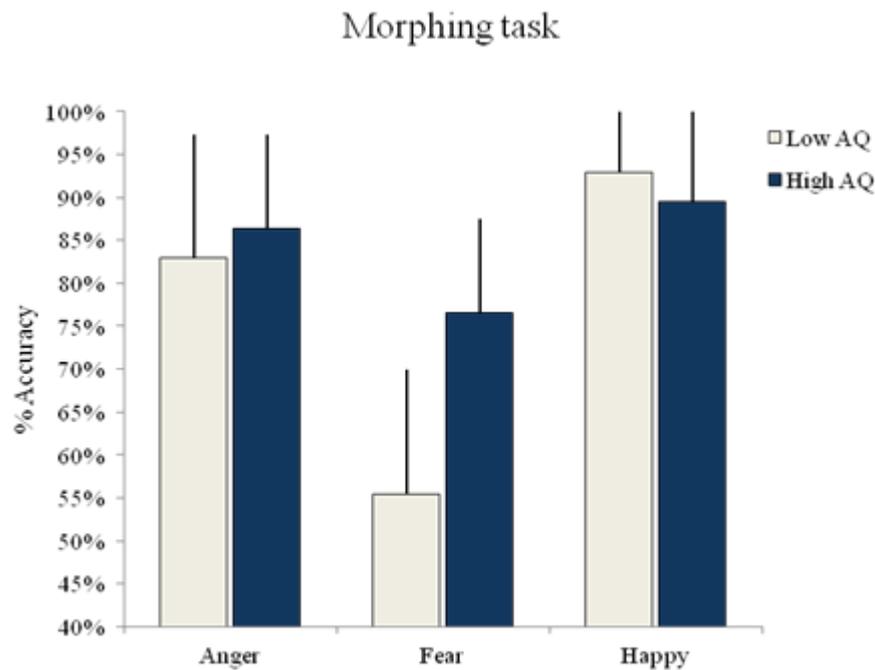


Figure 2. Mean accuracy and SD for emotion recognition in the morphing task in Low aggressive (n= 15) and High aggressive (n=16) participants.

In addition, the AQ score of participants were entered in a multiple regression as predictors with percentage of clicks and accuracy for recognition of each emotional expression as dependent variables. We found a positive correlation between AQ score and percentage of clicks in recognizing happy faces ($\beta = .46, p < .01$), indicating that the more individual are aggressive, the more happy morphological features they need. No others significant correlations were found.

Backward Masking Task (BM task)

Because of some technical problems in the recording of responses during the BM task, one subject was discarded from the analysis, so that the analysis was performed on 33 subjects.

Percentage of correct responses (Accuracy) - We observed that target expression recognition accuracy was not significantly above chance at 36–ms SOA ($p = .13$) for anger and at 50 – ms SOA ($p = .17$) for fear discrimination. The mean correct detection percentage for anger expressions at 36 ms was 55 % (SD= 0.27), while the mean correct detection percentage for fear expressions at 50 – ms SOA was 56% (SD= 0.35). Performance was clearly above chance level ($p < .0001$) for SOAs 76-130 ms for both anger and fear discrimination. Participants' performance for happy expressions and neutral control expressions showed a ceiling effect as accuracy for recognition of both these expressions resulted to be significantly above chance for all SOAs ($< .0001$). The mean correct percentage discrimination for happy expressions at 23-ms SOA was 79% (SD= 0, 22). The corresponding value for neutral control expressions was 94%.

A general ANOVA on accuracy in recognizing emotions revealed that participants had significantly lower correct response percentage in discriminating negative emotional expressions (anger and fear) compared to positive and neutral expressions [$F(3, 96) = 34.40, p < .0001$]. In particular, no significant difference between anger (67%) and fear (67%) and between happy and neutral expressions emerged, while discrimination of happiness (92%) significantly differed from anger ($p < .0001$) and fear ($p < .0001$). A general 9 (SOA: 23, 36, 50, 63, 76, 90, 103, 116, 130 ms) x 4 (Emotion: Anger vs. Fear vs. Happy vs. Neutral) ANOVA comparing discrimination of different emotional and control expressions as function of SOA resulted in significant main effects of both Emotion ($p < .00001$) and SOA ($p < .00001$) and a significant interaction SOA x Emotion [$F(3, 118) = , p < .0001$]. Results showed that only accuracy for discrimination of negative emotional expressions (anger and fear) varies as function of time presentation of the target stimulus. This variation is clearly illustrated in the Figure 3.

Backward Masking task

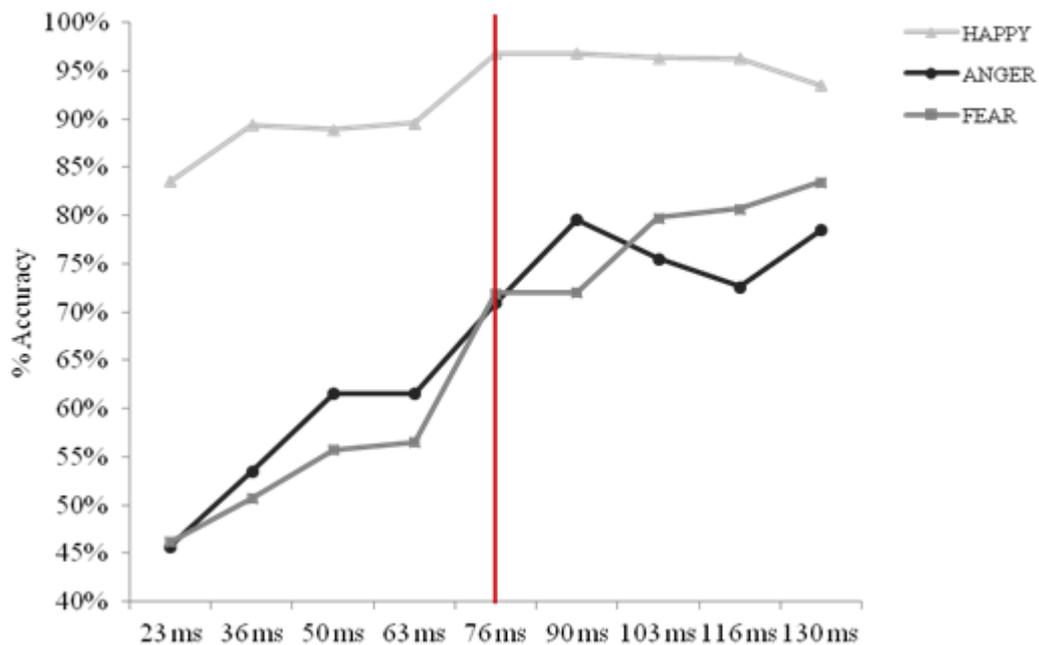


Figure 3. Performance accuracy for emotional facial expression as function of SOA in the Backward masking task. The red line indicates threshold of consciousness.

As for the morphing task, we conducted an ANOVA 2 (Group: Low AQ vs. High AQ) X 3 (Emotion: Anger vs. Fear vs. Happy) comparing accuracy in recognition of facial expressions of emotions in the Low ($n = 15$) and High ($n = 15$) AQ participants. The analysis showed a main effect of emotion [$F(2, 56) = 39.14, p < .0001$] with higher accuracy for happy facial expressions (93%) compared to fear and anger (respectively 68% and 69%). These results confirm those found in the previous general ANOVA. No main effect of group appeared. Interestingly, the analysis revealed a significant Emotion X Group interaction [$F(2, 56) = 3.605, p < .05$]. Planned comparisons showed significant difference between Low and High AQ groups only in detection of fearful facial expressions ($p < .05$). As showed in figure 4, High AQ participants were significantly more accurate than Low AQ participants in detection of fear expressions. Accuracy for happy and angry expressions was not affected by the aggression level of participants (see Figure 4).

Backward Masking task

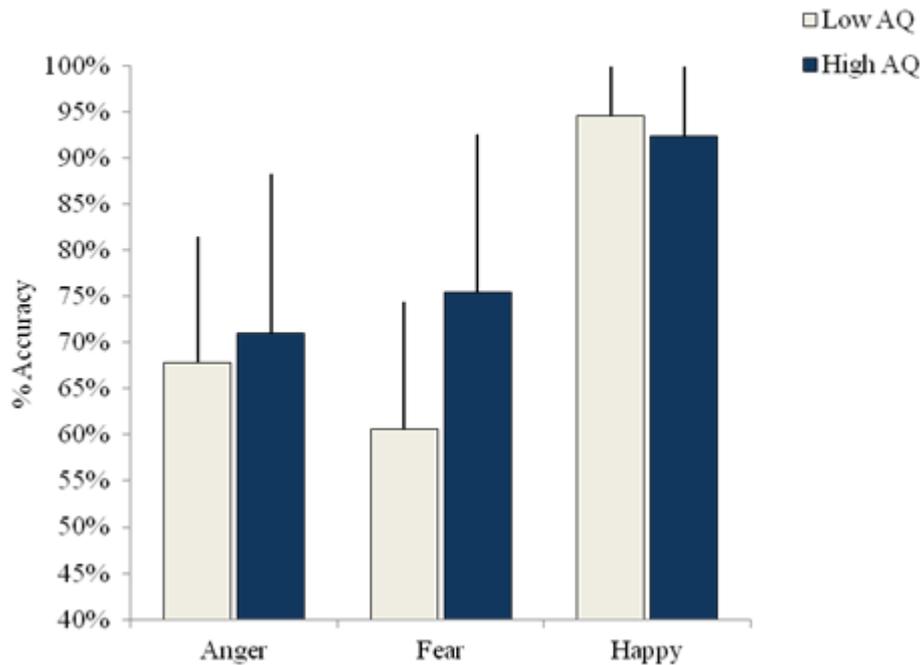


Figure 4. Mean accuracy and SD in the backward masking task for Low aggressive and High aggressive participants.

To test if accuracy in fear recognition in the two groups was affected by the SOA we performed a separated 9 (SOA: 23, 36, 50, 63, 76, 90, 103, 116, 130 ms) x 2 (Group: Low AQ vs. High AQ) ANOVA only on accuracy for fearful facial expressions. As expected, we obtained a significant main effect of group [$F(1, 28) = 3.97, p = 0.05$], showing that accuracy rates of the High AQ group (75%) were significantly higher than accuracy rates of the Low AQ group (59%). Moreover, a strongly significant main effect of SOA was found. Post hoc tests (Newman-Keuls) showed that accuracy rates increased together with increasing SOA. Specifically we found that accuracy in 76, 90, 103, 116, 130 ms blocks (overt perception) was significantly higher than in 23, 36, 50, 63 ms blocks (covert perception), all $p < .005$. The interaction SOA x Group resulted to be close to significance ($p = .06$) with a tendency to earlier recognition of fear in the High AQ group compared to Low AQ group.

Response times (RT) - A one way ANOVA on response time (RT) showed significant differences in recognizing anger, fear, happy and neutral expressions [$F(3,96) = 54.23, p < .00001$]. Post hoc tests showed that participants were significantly slower in recognizing anger (2415 ms) compared to fear

(2191 ms, $p < .01$) and happy (1684 ms, $p < .001$) emotional expressions. Fear and happiness also resulted to be significantly different from each other ($p < .001$).

Aiming to investigate whether time responses for each emotion varied as function of SOA, we performed a general 9 (SOA) x 4 (Anger vs. Fear vs. Happy vs. Neutral) repeated measures ANOVA. The analysis reported significant main effects of Emotion ($p < .0001$), with slower response time for negative (2440ms for anger and 2227ms for fear, did not differ each other) expressions compared to positive (1699ms) and neutral ones (1441ms) and a main effect of SOA ($p < .0001$), with slower response time for covert (23, 36, 50, 63 ms) compared to overt perception SOA (76, 90, 103, 116 ms). Nevertheless, no significant SOA x Emotion interaction was found.

Importantly, we investigated the relationship between aggression personality trait and time response for recognition of emotional expressions. Again, we performed an ANOVA 2 (Group: Low AQ vs. High AQ) X 3 (Emotion: Anger vs. Fear vs. Happy) on response times, that did not include neutral control expressions. This analysis showed only a main effect of emotion, indicating significantly longer response times to recognize anger facial expressions (2291 ms) compared to fear (2090 ms) and happy (1614 ms, $ps < .01$ in all cases). No effect of group or interaction group x emotion was found.

In addition, the AQ score of participants were entered in a multiple regression as predictors with RT and accuracy for each emotional expression as dependent variable. The analysis yielded no significant results.

Discussion

Facial expressions typically contain cues that allow to quickly understand others' emotional states (Fox et al. 2007). This makes the ability to recognize emotions from facial expressions critical in processing socially relevant information (Heuer et al. 2010) togliere. Nevertheless, there is no as yet clear behavioral evidence regarding the influence of specific personality traits, such as aggression, on identification of facial expressions and, which are the individual characteristics that may influence this important ability is still a matter of concern. The aim of the current study was to investigate the role of a particular trait of personality such as aggression in modulating how people recognize facial emotional expressions. To this aim, we tested participants in two tasks of facial emotional expressions recognition.

Since previous literature has attracted the criticism that static stimuli lack the dynamic and contextual cues of natural stimuli (D. G. Moore, Hobson, and Lee 1997), we tested participants with static stimuli in one task (backward masking) and dynamic stimuli in the second one (morphing). Measures of personality were collected by self-report questionnaires.

Results from both tasks showed that happiness was the easiest emotional facial expression to be recognized, followed by anger and fear, as the most difficult. Indeed, in the morphing task less morphological characteristics were needed to identify happy facial expressions and participants were significantly more accurate in recognizing this emotion compared to the two others. Similarly, in the backward masking task participants showed shorter response time to recognize expressions of happiness compared to fearful and angry expressions, even at level of covert perception. Thus, the recognition of happy faces seemed not to be influenced by the time of presentation. On the contrary, the recognition of facial expressions of negative emotions such as fear and anger resulted to vary as function of the time presentation, so that accuracy rates in recognizing negative emotion increase together with the stimuli time presentation.

These findings are in line with previous literature indicating happiness to be the easiest emotion to identify (Matheson and Jahoda 2005; Walz and Benson 1996), whilst fear the most difficult (R Adolphs 2002). For instance, early studies on universality of emotion facial expression (Izard 1992; Ekman, Friesen, and O'Sullivan 1987) showed that happy faces reached the highest score in recognition across cultures. Moreover, it has been reported that developmentally happiness is the first emotion to be recognized, followed by sadness (Izard, 1971).

We also showed that happiness implicates fast recognition processes. This may be due to the meaning that expressions of happiness convey. In an interpersonal perspective, for instance, the expression of joy has been interpreted as a sign of cooperation and affiliation (Schmidt and Cohn 2001) that provides important information to interact with others, which is indispensable for human well-being (Thomas R Insel and Fernald 2004).

These results might be also in accordance with the widely spread idea that our brain is naturally biased towards optimism (Sharot 2011). The optimism bias consists of the tendency to predict what will happen in the future by overestimating the likelihood of positive events and underestimate the

likelihood of negative events. Indeed, Sharot and her colleagues showed that participants expected more likely positive events to occur in the future compared to negative events and imagined them to happen closer in temporal proximity (Sharot et al. 2007). As suggested by the authors this effect may be due to the fact that future is open to interpretation and allows subjects to distance from negative events. In this perspective, it is also possible that the optimism bias influence emotions recognition, making participants more prone to judge facial expressions as happy and leading to faster happiness recognition processes.

More important for the purpose of the present study, we found that different level of aggression in personality may affect individuals' ability to recognize emotional facial expressions. We focused on the influence of aggression traits as it has been less investigated in the past compared to other personality traits such as anxiety. The overall effects of experiencing anger are enormous. While anger is an emotional, physiological and cognitive internal state, aggression is considered as the tendency to action. Traditionally, aggression has been defined as an overt behavior with the intention of inflicting physical damage to another individual (Nelson and Trainor 2007). It is a complex social behavior that evolved in the adaptive context of defending or competition for resources (Berkovitz, 1993), but when expressed out of these contexts may have disastrous consequences such as uncontrolled impulsivity and impaired recognition of social cues. Accordingly, our results showed that higher traits of aggression impaired recognition of emotional facial expressions in general. Indeed individuals with aggressive tendencies exhibited less sensitivity to dynamic stimuli and needed more morphological features in order to recognize facial expressions of emotions. This is also consistent with previous studies indicating that patients diagnosed with intermittent explosive disorder (IED) which are characterized by aggressive impulsivity (Best, Williams, and Coccaro 2002), performed poorly on facial emotion recognition tasks as well as aggressive patients with mental disability (Matheson and Jahoda 2005; Walz and Benson 1996). Interestingly in our study although level of aggression did not affect accuracy in general recognition of emotions, individuals with greater tendency to aggression resulted to be significantly more accurate in labeling only fear facial expressions compared to individuals with lower tendency to aggression. Moreover, participants with high level of aggression did not differ from low aggressive participants in the percentage of clicks needed to recognize fearful expressions. This might suggest that

with the same level of morphological information aggressive people are more sensitive to detect fearful expressions compared to non aggressive people. It is likely that people that often experience negative emotion such as anger (which is also strictly related to fear), are biased toward this kind of expressions, despite their general impairment in recognition of emotions. Consistent with this latter hypothesis, we found that more aggressive individuals had difficulty in identifying happy facial expressions.

The results from the backward masking task strongly confirmed the facilitation in recognition of fearful expressions in more aggressive individuals. Interestingly, the results from the backward masking task mirrored exactly those from the morphing task. These results indicated not only that aggressive people were more accurate in recognizing fearful facial expressions compared to non aggressive people but also that they have tendency to recognize fearful facial expressions at earlier level of perception.

This result may be explained by the complementarities between fear and aggression. Indeed, aggressive people who have the tendency to dominate and to attack are also likely to be more used to detect fear in others during their social interactions. This hypothesis is in line with previous neuroimaging observations that showed aggressive individuals to have amplified left amygdala response to representations of fearful faces (Carlson, Greenberg, and Mujica-Parodi 2010) and suggested this to be a trigger for aggressive behavior. Previous studies specifically implicate amygdala and prefrontal cortex in aggression (Davidson 2000): for instance, it has been shown that amygdala dysfunction lead to impulsive aggressive behavior (Van Elst et al. 2000), and that specific damage of OFC is also associated with aggression, impulsivity and scant control of emotions (Anderson et al. 1999; Damasio 1994). One possibility is that aggressive individuals suffer from a lack of prefrontal control on subcortical regions. In line with this, theoretical models proposing that humans possess a cognitive mechanism that mediates suppression of aggression and predispose to withdraw in distress contexts (R. J. Blair 1995). Absence or impairment of this mechanism would lead to aggressive behavior and to a dysfunctional development of morality. Accordingly, additional studies showed that psychopaths, which are usually marked by aggressive reactivity, are also impaired in inhibitory control and have an impaired functioning of prefrontal cortex (R. J. Blair 2001; R. J. R. Blair 2010).

In sum, we showed that high level of aggression in personality may affect the ability to recognize emotional expressions. This is the first study that combined two different tasks with static and dynamic

stimuli, reporting the same pattern of results in both tasks. This effect highlights the consistency of our results and equally the strong influence of aggressive personality on emotion recognition processes.

Interestingly, we showed that although there is a bias towards positive emotions, aggression traits of personality may overcome this bias by leading to more sensitivity in fear recognition. As facial expression of emotion is an important cue of social relevant information, our results provide evidence that individual differences in personality are critical aspects for good functioning of social and interpersonal behavior.

References

- Adolphs, R. (2002a). Neural systems for recognizing emotion. *Current Opinion in Neurobiology*, *12*(2), 169-177.
- Adolphs, R. (2002b). Recognizing emotion from facial expressions: Psychological and neurological mechanisms. *Behavioral and cognitive neuroscience reviews*, *1*(1), 21-62.
- Adolphs, R., Tranel, D., & Damasio, A. R. (2003). Dissociable neural systems for recognizing emotions. *Brain and Cognition*, *52*(1), 61-69.
- Anderson, S. W., Bechara, A., Damasio, H., Tranel, D., & Damasio, A. R. (1999). Impairment of social and moral behavior related to early damage in human prefrontal cortex. *Nature Neuroscience*, *2*(11), 1032-7.
- Averill, J. R. (1983). Studies on anger and aggression. Implications for theories of emotion. *The American Psychologist*, *38*(11), 1145-60.
- Bar-Haim, Y., Lamy, D., Pergamin, L., Bakermans-Kranenburg, M. J., & Van IJzendoorn, M. H. (2007). Threat-related attentional bias in anxious and nonanxious individuals: a meta-analytic study. *Psychological Bulletin*, *133*(1), 1-24.
- Berkowitz, L. (1993). *Aggression: its causes, consequences, and control*. NY: McGraw-Hill Book Company. xxiv 485 pp.
- Best, M., Williams, J. M., & Coccaro, E. F. (2002). Evidence for a dysfunctional prefrontal circuit in patients with an impulsive aggressive disorder. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *99*(12), 8448-53.
- Blair, R. J. (1995). A cognitive developmental approach to mortality: investigating the psychopath. *Cognition*, *57*(1), 1-29.
- Blair, R. J. (2001). Neurocognitive models of aggression, the antisocial personality disorders, and psychopathy. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, *71*(6), 727-31.
- Blair, R. J. (2010). Neuroimaging of psychopathy and antisocial behavior: a targeted review. *Current Psychiatry Reports*, *12*(1), 76-82.

- Buss, A.H., & Perry, M. (1992). The aggression questionnaire. *Journal of Personality and Social Psychology*, 63(3), 452-9.
- Calder, A. J., Ewbank, M., & Passamonti, L. (2011). Personality influences the neural responses to viewing facial expressions of emotion. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Biological sciences*, 366, 1684-701.
- Canli, T., Zhao, Z., Desmond, J., & Kang, E. (2001). An fMRI study of personality influences on brain reactivity to emotional stimuli. *Behavioral Neuroscience*, 115(1), 33-42.
- Carlson, J. M., Greenberg, T., & Mujica-Parodi, L. R. (2010). Blind rage? Heightened anger is associated with altered amygdala responses to masked and unmasked fearful faces. *Psychiatry Research*, 182(3), 281-3.
- Carré, J. M., Fisher, P. M., Manuck, S. B., & Hariri, A. R. (2010). Interaction between trait anxiety and trait anger predict amygdala reactivity to angry facial expressions in men but not women. *Social Cognitive and Affective Neuroscience*, 7(2), 213-21.
- Damasio, A.R. (1994). *Descartes's error*. G. Putnam (Ed.). New York.
- Davidson, R. (2000). Dysfunction in the neural circuitry of emotion regulation: a possible prelude to violence. *Science*, 289(5479), 591-594.
- Eastwood, J. D., Smilek, D., & Merikle, P. M. (2001). Differential attentional guidance by unattended faces expressing positive and negative emotion. *Perception & Psychophysics*, 63(6), 1004-13.
- Ekman, P., & Friesen W.V. (1976). Measuring facial movements. *Experimental Psychology and Nonverbal Behavior*, 1(1), 56-75.
- Ekman, P., Friesen, W.V., & O'Sullivan, M. (1987). Universal and cultural differences in the judgments of facial expressions of emotion. *Journal of Personality*, 5(4), 712-717.
- Fox, E., Lester, V., Russo, R., Bowles, R., Pichler, A., & Dutton, K. (2007). Facial expressions of emotion: are angry faces detected more efficiently? *Cognition & Emotion*, 14(1), 1-26.
- Fox, E., Russo, R., & Georgiou G. (2005). Anxiety modulates the degree of attentive resources required to process emotional faces. *Cognitive, Affective, & Behavioral Neuroscience*, 5(4), 396-404.
- Fox, E., Russo, R., Bowles, R., & Dutton, K. (2001). Do threatening stimuli draw or hold visual attention in subclinical anxiety? *Journal of Experimental Psychology*, 130(4), 681-700.
- Heuer, K., Lange, W.G., Isaac, L., Rinck, M., & Becker, E. S. (2010). Morphed emotional faces: emotion detection and misinterpretation in social anxiety. *Journal of Behavior Therapy and Experimental Psychiatry*, 41(4), 418-25.
- Hext, L., & Lunsky, Y. (1997). A social skills program: "A learning by doing model." *Habilitative Mental Healthcare Newsletter*, 16, 7-10.
- Insel, T. R., & Fernald, R. D. (2004). How the brain processes social information: searching for the social brain. *Annual Review of Neuroscience*, 27, 697-722.
- Izard, C. E. (1971). *The face of emotion*. East Norwalk, CT, US: Appleton-Century-Crofts. xii 468 pp.

- Izard, C. E. (1992). Basic emotions, relations among emotions, and emotion-cognition relations. *Psychological Review*, 99(3), 561-5.
- Loveland, K. A., Tunali-Kotoski, B., Chen, Y. R., Ortegon, J., Pearson, D. A., Brelsford, K. A., & Gibbs, M. C. (1997). Emotion recognition in autism: verbal and nonverbal information. *Development and Psychopathology*, 9(3), 579-93.
- Matheson, E., & Jahoda, A. (2005). Emotional understanding in aggressive and nonaggressive individuals with mild or moderate mental retardation. *American Journal on Mental Retardation*, 110(1), 57-67.
- Mineka, S., & Cook, M. (1993). Mechanisms involved in the observational conditioning of fear. *Journal of Experimental Psychology: General*, 122(1), 23-38.
- Mogg, K., & Bradley, B. (1999). Selective attention and anxiety: a cognitive-motivational perspective. In T. Dalgeish & M. Power (Eds.), *Handbook of Cognition and Emotion* (pp. 145-170). John Wiley & Sons.
- Mogg, K., Philippot, P., & Bradley, B. P. (2004). Selective attention to angry faces in clinical social phobia. *Journal of Abnormal Psychology*, 113(1), 160-5.
- Moore, D. G., Hobson, R. P., & Lee, A. (1997). Components of person perception: an investigation with autistic, non-autistic retarded and typically developing children and adolescents. *British Journal of Developmental Psychology*, 15(4), 401-423.
- Nelson, R. J., & Trainor, B. C. (2007). Neural mechanisms of aggression. *Nature Reviews*, 8(7), 536-46.
- Ohman, A., Lundqvist, D., & Esteves, F. (2001). The face in the crowd revisited: a threat advantage with schematic stimuli. *Journal of Personality and Social Psychology*, 80(3), 381-96.
- Phillips, M. L., Drevets, W. C., Rauch, S. L., & Lane, R. (2003). Neurobiology of emotion perception I: the neural basis of normal emotion perception. *Biological Psychiatry*, 54(5), 504-514.
- Schmidt, K. L., & Cohn, J. F. (2001). Human facial expression as adaptation: evolutionary questions in facial expression research. *American Journal of Physical Anthropology*, 33, 3-24.
- Sharot, T. (2011). The optimism bias. *Current Biology*, 21(23), R941-5. doi:10.1016/j.cub.2011.10.030
- Sharot, T., Riccardi, A. M., Raio, C. M., & Phelps, E. A. (2007). Neural mechanisms mediating optimism bias. *Nature*, 450(7166), 102-5. doi:10.1038/nature06280
- Tottenham, N., Tanaka, J. W., Leon, A. C., McCarry, T., Nurse, M., Hare, T. A., Marcus, D. J., Nelson, C. (2009). The NimStim set of facial expressions: judgments from untrained research participants. *Psychiatry research*, 168(3), 242-9.
- Van Elst, L. T., Woermann, F. G., Lemieux, L., Thompson, P. J., & Trimble, M. R. (2000). Affective aggression in patients with temporal lobe epilepsy: a quantitative MRI study of the amygdala. *Brain*, 123 Pt 2, 234-43.
- Van Honk, J., Tuiten, A., Van den Hout, M., Koppeschaar, H., Thijssen, J., de Haan, E., & Verbaten, R. (2000). Conscious and preconscious selective attention to social threat: different neuroendocrine response patterns. *Psychoneuroendocrinology*, 25(6), 577-91.
- Van Honk, J., Tuiten, A., Hout, M. V. D., & Putman, P. (2001). Selective attention to unmasked and masked threatening words: relationships to trait anger and anxiety. *Personality and Individual Differences*, 30(4), 711-720.

- Walz, N., & Benson, B. (1996). Labeling and discrimination of facial expressions by aggressive and nonaggressive men with mental retardation. *American Journal on Mental Retardation*, *101*, 282–291.
- Williams, K. E., Chambless, D. L., & Ahrens, A. (1997). Are emotions frightening? An extension of the fear of fear construct. *Behaviour Research and Therapy*, *35*(3), 239-48.
- Williams, L. M., Liddell, B. J., Rathjen, J., Brown, K. J., Gray, J., Phillips, M., Young, A., & Gordon, E. (2004). Mapping the time course of nonconscious and conscious perception of fear: an integration of central and peripheral measures. *Human Brain Mapping*, *21*(2), 64-74.

C. ANNEXE III : TEMOIGNAGE DES PATIENTS AYANT PARTICIPE A NOTRE ETUDE

Je tiens à remercier chaleureusement tous les patients ayant participé à cette étude. Leur rencontre à été extrêmement enrichissante tant d'un point de vue professionnel que personnel.

Dans le cadre de cette étude ils ont accepté de nous donner leur point de vue sur leur propre pathologie. Voici leur témoignage :

Tous ces témoignages ont été rendus anonymes et aucun n'a été soumis à modification

Cédric :

« Je peux donc vous donner ma vision personnelle, impressionniste presque, sur l'autisme Asperger tel que je le vis moi. Puisque c'est vrai, le point de vue des personnes concernées sera obligatoirement singulier, chaque autisme dans son écrin humain particulier, représentant une variabilité énorme (incidemment, je crois qu'il n'existe pas de signes physiques visibles à l'oeil nu indiquant qu'une personne est autiste. Mais vous en avez côtoyé des dizaines, et je me demandais si tout de même, vous étiez parvenue à remarquer quelque chose de l'ordre du point commun entre nous, si vous aviez pu être marquée par une quelconque caractéristique humaine à notre approche initiale. Enfin bon c'est un détail). Et en effet, l'expérience vécue et ressentie par les autistes change des descriptions médicales, scientifiques, et s'en préoccuper et s'y intéresser montre bien que vous conservez une vision humaniste de votre travail, même si le travail de recherche est passionnant en lui-même.

Ca va être un peu un fouillis ce que je vais dire, et je vais sans doute "déborder du sujet". Mais de toute façon je ne saurais arranger ma pensée sur l'autisme, elle fluctue, elle évolue, elle doute, bref l'autisme est un trouble très... troublant.

Alors en premier j'aurais envie d'indiquer à quel point je comprends de plus en plus combien ça me handicape de n'accorder aux gens, aux visages, guère plus d'attention qu'aux objets, à l'environnement. J'ai grandi et évolué sans guère d'existence de ce lien humain, qui fait le ciment d'une vie sociale réussie, sans ces rapports privilégiés, affectifs. Sans être capable de m'ouvrir à ces modalités de communication, de reconnaissance. J'ai été aveugle à tout ça. Je suis passé à côté.

D'où, forcément, l'origine de mon isolement progressif, durable, et toujours actuel même. Bien que je fasse des efforts, suive des thérapies, heureusement maintenant en connaissance de causes depuis mon diagnostic tardif (il n'y a même pas un an). Mais c'est cela, cette amputation d'une faculté essentielle de communication que j'ai fortement envie de mettre en avant. C'est cela qui fait la matière du handicap. L'Etre humain est fait pour vivre en société, nous sommes interdépendants les uns des autres, et que les autistes ne puissent se raccrocher aux autres par un pan entier des relations ordinaires entre personnes leur nuit très gravement.

En corollaire à tout ceci, il y a évidemment le manque de relations, qui se fait plus pesant au fil des années. Que ce soit les relations familiales insatisfaisantes (incompréhensions, malentendus, tensions), ou les relations amicales, ainsi qu'amoureuses. J'ai beau être Asperger, je pense que j'ai pas mal évolué sur le plan de l'intérêt que l'autre représente pour moi. Et j'aimerais pouvoir avoir de vrais amis, une compagne également, car ça devient un peu infernal parfois le sentiment de solitude. Internet aide pas mal, partiellement, à combler une partie de ce vide. Je vous disais que j'aimais écrire de longs mails en ce moment, et c'est vrai que j'ai quelques correspondants (des correspondantes d'ailleurs) qui représentent pour moi bien plus de réalité en matière de relation que n'importe qui que je côtoie dans la vraie vie. On prend plaisir à s'écrire, j'arrive à m'exprimer librement, fluidement, "intimement". J'ai d'ailleurs ouvert un blog (anonyme) pour exposer un peu mes états d'âme. Bref l'écrit aide pas mal sans doute les autistes pour pouvoir montrer et dire qui ils sont, puisqu'ils ont énormément de difficultés à communiquer normalement.

Sinon, l'autisme pour moi a aussi un impact sur le plan physique. Je suis maladroit, lent, mal à l'aise avec mon corps. Mon écriture est malhabile. Je ne suis pas doué pour le sport avec les ballons. Ma démarche est gauche, raide.

Aussi, je voudrais dire que la conséquence que l'autisme soit encore très insuffisamment détecté et diagnostiqué, c'est que beaucoup de gens souffrent sans savoir pourquoi. Qu'ils peuvent développer des comorbidités, et avoir de fausses croyances sur l'origine véritable de leurs maux. Qu'ils peuvent se croire "fous", ou sans valeur, ou sans espoir de pouvoir aller mieux.

Pour essayer de dire des choses positives, je pourrais évoquer l'amour de la précision, de la logique, le sens du détail, l'honnêteté, le sens de la justice, bref quelques qualités dont peuvent être dotés les Aspergers, et qui peut les rendre ou rendre leur œuvre agréable ou remarquable. Certains sont exceptionnellement doués.

Je pourrais aussi dire que pour moi, l'autisme a été à la fois un immense handicap social, et à la fois une chance incroyable. Celle de voir le monde différemment, singulièrement. Je me sens souvent unique ou rare dans mon approche des choses. J'ai l'impression que peu de personnes partagent mes vues, que les gens passent à côté de choses essentielles. En somme c'est un peu comme le privilège d'un artiste, qui voit le monde au-delà des apparences. Je crois que des perceptions inhabituelles du monde ouvrent accès à des sortes de jardins secrets, réservés à peu de gens susceptibles de les découvrir. En ce sens, je ne voudrais presque pas "guérir", si un jour on trouvait une molécule atténuant très fortement l'autisme. De peur de perdre ces facultés privilégiées d'abord du monde.

Pour terminer, et un peu dans le ton du paragraphe précédent, j'aurais envie de dire que certes l'autisme m'a énormément fait souffrir dans ma vie, certes ma vie est encore actuellement bien laborieuse, difficile, certes il y a des moments très durs qui vont jusqu'au désespoir, mais enfin, je ne regrette pas fondamentalement d'être et d'avoir été comme je suis. Comme dit, j'ai eu la chance de pouvoir voir le monde différemment, et je crois que c'est une force au milieu de mes

fragilités. Et je ne désespère pas de parvenir à vivre une vie plus normale, plus sociale, plus satisfaisante. Qui sera alors plus jouissive, et d'autant plus que je l'aurais attendue plus longtemps. Je sais que c'est une idée fixe, un peu obsédante souvent, mais j'ai dans mon esprit l'espoir raisonnable de vivre un jour une petite histoire d'amour, une vie en proximité avec une compagne avec laquelle je me serai trouvé des affinités certaines. Histoire de me réinclure en douceur, peut-être, dans une vie sociale, en commençant à deux. On dit que l'amour renverse des montagnes, alors pourquoi pas l'autisme. Je vous parlais de mes correspondantes par mails. L'une d'entre elles me plaît particulièrement, et nous ne faisons certes que nous écrire encore assez rarement, mais on s'entend bien. On verra ce que l'avenir réserve. Mais pour dire, c'est ce genre d'opportunité, l'écrit via Internet qui m'offre l'opportunité de m'ouvrir au monde. C'est une énorme chance pour les autistes ça. A mon avis ça fait autant de bien voire plus que n'importe quel médicament susceptible d'être mis sur le marché à court terme.

Mais ne vous arrêtez pas dans la recherche hein. D'ailleurs, pour finir, et pour parler un peu de vous et de vos études, je trouve que c'est un énorme privilège de pouvoir faire un métier stimulant intellectuellement, de pouvoir s'occuper l'esprit à longueur de journée avec des choses intéressantes, et de pouvoir en vivre. J'aurais adoré pouvoir avoir ce genre de cursus, mais l'autisme m'a rattrapé bien vite pour mettre un stop définitif à mes prétentions. Bon je sais que c'est énormément de travail aussi, pour assurer le sérieux des études. Il faut être carré, même si c'est pas marrant. Mais reste que c'est une vie passionnante sans doute. Quand on est chauffeur routier comme moi, difficile de trouver de la stimulation intellectuelle au travail, j'en souffre souvent, mais bon, c'est aussi un privilège de pouvoir gagner sa vie. Et j'essaie de me rattraper sur mon temps libre. »

Gabriel :

« Le s asperger est une autre dimension, c'est dur à décrire, nous ne captions pas les émotions intrinsèques de nos interlocuteurs. les méthodes ABA et teach pour l'apprentissage des bons comportements sont à privilégier.

Cela s'apprend comme sur un livre de grammaire pour les asperger et les autistes. Maintenant l'expérience m'a appris à ne pas parler de cet aspect des choses aux autres, comme je l'ai dit l'expérience m'a appris que moins les gens en savent sur moi mieux ça vaut. »

Patrick :

« Ce qui me vient à l'esprit spontanément ce sont les mots Créativité et Différence

Voici une photo d'un atelier que ma femme avait suivi avec notre fille et qui peut symboliser l'enfant Autiste qui est resté au pays des rêves un peu comme dans le conte Peter PAN et le capitaine Crochet : Peter PAN est l'Asperger et le capitaine CROCHET, les personnes neurotypiques qui veulent le ramener dans le moule des personnes normales!

C'est vrai aussi bien pour les autistes selon le Dr Kanner qu'Asperger (la différence c'est que le premier ne peut pas compenser son handicap, alors que l'Asperger va apprendre vite à le faire s'il est bien stimulé par ses parents, la méthode ABA, TEACCH, etc.). »

Olivier :

« Pour moi, le Syndrome d'Asperger est une différence. Malgré ma différence, j'ai réussi à m'intégrer dans le monde qui m'entoure et que je ne me sens pas exclu. »

Lucas :

« Comme je vous l'ai dit, quand je suis venu vous voir pour passer les examens, mon emploi du temps a changé, depuis le mois de Décembre j'ai intégré une nouvelle équipe.

Je ne sais pas pour les personnes normales, mais en ce qui me concerne, c'est très difficile de m'adapter, car qui dit nouvelle recrue, dis nouvelle réputation, et c'est encore plus dure à supporter.

Je suis atypique, mais je peux participer une nouvelle fois, vivre au milieu de personnes censée, c'est très dure. Faire des efforts pour paraître ordinaire, ce n'est pas facile, Et quand on nous demande de faire des efforts pour x raisons, l'on ne donne pas 100, mais 500 % de notre capacité. »

Patrice :

« J'ai très souvent le sentiment d'être bien décalé dans ce monde clairement absurde avec ses codes généralement obscurs et illogiques. »

Rémi :

« si je dois résumer le syndrome d'asperger pour moi c'est ça:
je dirais que c'est la réponse à tous ce que je ne comprenais pas qu'il m'arrive depuis que je suis petit, la réponse à pourquoi je me sens si différent.

Au début quand on m'en a parlé j'ai refusé d'admettre l'évidence et puis j'ai compris que asperger ne signifiait pas attardé, en fait on est aussi intelligent qu'une personne normale vois plus, mais elle ne se manifeste qu'aux yeux de ceux qui ne nous jugent pas. D'ailleurs j'arrive à mener une vie à peu près normale et la plupart de mes amis ne sont pas au courant. »

Sam :

« Pour moi la solitude, c'est être seul sans être libre.

Dans le film « La Ligne Rouge », Sean Penn répond à la question

« Est-ce qu'il vous arrive de vous sentir seul des fois ? »

Il répond « Seulement avec les gens »

Voilà le problème : C'est avec les gens que je prends conscience de ma différence, de cette incompatibilité permanente, de cette incomplétude notoire, et de cette vacuité fondamentale de ma personne. Et c'est pour ça que chez moi, à l'inverse des autres, l'amour rend malheureux. L'égoïsme dont nous – Asperger – faisons tous preuve n'est pas une perversion comme je le ressens chez les autres (sans doute une conséquence de ma misanthropie), mais c'est une protection (narcissique ?) contre l'intrusion et le regard des autres. Dans la vie, l'appartenance à la société est le résultat de cette action permanente de l'individu : Faire croire que l'on vaut mieux que ce que l'on est.

J'ai moi-même fonctionné selon cette logique, surtout étant jeune (Un autre Asperger m'a dit un jour : « Les groupes sociaux se construisent sur l'exclusion »), mais depuis une quinzaine d'années, je ne veux plus m'intégrer, je me suis assez battu contre mes moulins ; et j'ai aussi cessé de croire que chez le voisin, l'herbe est toujours plus verte (car pour tout le monde en général, on cache dans nos jardins secrets nos échecs, et toutes les choses dont on est pas très fier : nos jardins secrets n'ont rien de bucoliques, ce sont les égouts de la conscience).

Mme. L. m'a demandé un jour la définition la plus brève et la plus concise de la vie pour moi :

« On fait ce que l'on peut, avec ce que l'on a, pendant le temps qui nous est imparti ».

Dès mon arrivée au CP, j'ai constaté que je n'étais pas comme tout le monde, j'ai constaté qu'il s'agit d'avoir des bonnes notes, de se faire bien voir : La compétition commence ... Elle sera suivie, quelques années plus tard par « le championnat du monde de la fausse modestie », très bien représenté dans le monde des sportifs amateurs (domaine par excellence en matière de compétition) : « Je n'ai plus rien à prouver » ; « je connais mes limites » ; 2 phrases souvent associées par la même personne, ce qui veut dire « Je suis le meilleur, mais je suis modeste ».

On m'a souvent dit que je n'avais pas confiance en moi, ce qui est vrai. Mais j'ajoute seulement (mais irrévocablement) que j'ai confiance en moi lorsque je suis seul.

Les autres ne me font pas confiance et ça me déstabilise ... et je n'ai plus confiance en moi.

Jim a construit un pont et il n'y avait personne de l'autre côté. Moi aussi j'ai construit ce pont, et moi non plus je n'ai trouvé personne ; alors j'ai compris que ce pont serait mon mythe de Sisiphe, qu'il faudrait construire un autre pont, puis un autre, et encore un autre...

Alors par lâcheté, résignation, mais aussi lucidité, j'ai retraversé dans l'autre sens ; et je suis repassé du « côté obscur ». »

Poème transmis par Sam, extrait d'un livre de Tony Attwood sur le syndrome Asperger:

J'ai construit un pont
Qui venait de nulle part et enjambait le néant
Pensant qu'il y aurait quelque chose de l'autre côté.

J'ai construit un pont
Qui sortait du brouillard et qui traversait la nuit
Espérant qu'il ferait jour de l'autre côté.

J'ai construit un pont
Avec mon désespoir et contre l'oubli
Pensant qu'il y aurait l'espoir de l'autre côté.

J'ai construit un pont
Qui sortait de l'enfer et franchissait le chaos
Croyant qu'il aurait de la force de l'autre côté.

J'ai construit un pont
Qui sortait de l'abîme et perçait la terreur
Et c'était un pont fidèle, un pont solide
Un pont magnifique
Que j'ai construit moi-même
Avec mes mains pour seul outil
Mon obstination pour seul appui
Ma foi pour seule travée
Mon sang pour seul rivet

J'ai construit un pont et je l'ai franchi
Mais il n'y avait personne de l'autre côté

Jim