



HAL
open science

Circuits thalamocorticaux de la prise de décision

Fabien Alcaraz

► **To cite this version:**

Fabien Alcaraz. Circuits thalamocorticaux de la prise de décision. Sciences agricoles. Université de Bordeaux, 2015. Français. NNT : 2015BORD0446 . tel-01285944

HAL Id: tel-01285944

<https://theses.hal.science/tel-01285944>

Submitted on 10 Mar 2016

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.

THESE

PRESENTEE A

L'UNIVERSITE DE BORDEAUX

ECOLE DOCTORALE DES SCIENCES DE LA VIE ET DE LA SANTE

PAR

Fabien ALCARAZ

POUR L'OBTENTION DU GRADE DE

DOCTEUR

SPECIALITE NEUROSCIENCES

**CIRCUITS THALAMOCORTICAUX DE LA PRISE DE
DECISION**

17 Décembre 2015

Thèse dirigée par :

Dr. Etienne COUTUREAU, DR, CNRS UMR 5287, Univ. Bordeaux

Dr. Mathieu WOLFF, CR, CNRS UMR 5287, Univ. Bordeaux

Membres du jury :

Catherine LE MOINE, DR, CNRS UMR 5287, Univ. Bordeaux

Jean-Christophe CASSEL, PR, CNRS UMR 7364, Univ. Strasbourg

Bruno POU CET, DR, CNRS UMR 7291, Univ. Aix-Marseille

Eric KREMER, DR, CNRS UMR 5535, Univ. Montpellier

Présidente

Rapporteur

Rapporteur

Examineur

AVANT-PROPOS

Ce travail a été effectué au sein du Centre de Neurosciences Cognitives et Intégratives d'Aquitaine (INCIA, CNRS UMR 5287) à l'université de Bordeaux, sous la co-direction des Drs Etienne Coutureau et Mathieu Wolff. Ce travail a fait l'objet de trois publications acceptées, d'une publication soumise, d'une publication en préparation et de communications affichées et orales.

Publications

Alcaraz F., Naneix F., Desfosses E., Marchand A.R., Wolff M. et Coutureau E. : « Dissociable effects of anterior and mediodorsal thalamic lesions on spatial goal-directed behavior » *Brain Struct. Funct.* (2014).

Wolff M., **Alcaraz F.**, Marchand A.R., Coutureau E. : « Functional heterogeneity of the limbic thalamus: from hippocampal to cortical functions » *Neurosci. Biobehav. Rev.* 54, 120–130 (2015).

Alcaraz F., Marchand A.R., Vidal E., Faugère A., Coutureau E., et Wolff M. : « Flexible use of predictive cues beyond the orbitofrontal cortex: role of the submedial thalamic nucleus » *J. Neurosci.* 35, 13183–13193 (2015).

Alcaraz F., Marchand A.R., Courtant G., Coutureau E., et Wolff M.: « Parallel inputs from the mediodorsal thalamus to the prefrontal cortex in the Rat » *EJN* (soumis).

Alcaraz F., Marchand A.R., Kremer E.J., Coutureau E. et Wolff M. : « The role of corticothalamic and thalamocortical pathways in goal-directed behaviors » (en préparation).

Communications orales

Alcaraz F.: « Thalamocortical control of goal-directed behaviour », Symposium « Decision Making », Bordeaux, France, avril 2015

Alcaraz F.: « Functional connectivity of behavioural functions in rodents », « Donders Discussion », Nimègue, Pays-Bas, Septembre 2014 (Sur invitation).

Alcaraz F. and Wolff M.: « Method to study thalamo-cortical pathway », Laboratoire du CRCA, Toulouse, France, Janvier 2014.

Communications affichées

Alcaraz F., Marchand A.R., Kremer E.J., Coutureau E. et Wolff M. : « The role of corticothalamic and thalamocortical pathways in goal-directed behaviors. » 45ème congrès annuel de la société des neurosciences, Chicago, USA, octobre 2015.

Alcaraz F., Marchand A.R., Coutureau E., Wolff M.: « Thalamocortical control of goal-directed behavior » Journée Neurocampus, Bordeaux, France, mai 2015.

Alcaraz F., Marchand A.R., Coutureau E., Wolff M.: « Thalamocortical control of goal-directed behavior » Journée de l'école doctoral, Arcachon, France, avril 2015.

Le Ray D., Beyeler A., Leroy C., **Alcaraz F.,** Simmers J. : « Developmental plasticity of the postural motor system of *Xenopus laevis* during metamorphosis : Impact of a premetamorphosis unilateral destruction of the vestibular endorgans. », Congrès annuel de la FENS, Milan, Italie, juillet 2014.

Alcaraz F., Naneix F., Desfosses E., Marchand A.R., Coutureau E., Wolff M. : « Dissociable effects of anterior and mediodorsal thalamic lesions on spatial goal-directed behavior », 5^{ème} colloque du Groupement de Recherche 2905 (Neurosciences de la mémoire), NeuroMem, Grasse, France, mai 2014.

Alcaraz F., Naneix F., Desfosses E., Marchand A.R., Coutureau E., Wolff M. : « Dissociable effects of anterior and mediodorsal thalamic lesions on spatial goal-directed behavior » Journée de l'école doctorale, Arcachon, France, avril 2014

Alcaraz F., Naneix F., Desfosses E., Marchand A.R., Coutureau E., Wolff M. : « Dissociable effects of anterior and mediodorsal thalamic lesions on spatial goal-directed behavior » congrès international « The Cognitive Thalamus », Strasbourg, France, decembre 2013.

REMERCIEMENTS

Je voudrais d'abord remercier le Dr. Jean-René Cazalets, directeur de l'Institut de Neurosciences Intégrative et Cognitive d'Aquitaine, pour m'avoir accueilli dans son laboratoire.

Je voudrais également remercier l'ensemble des membres du jury de thèse. Tout d'abord le Dr. Bruno Poucet et le Dr. Jean-Christophe Cassel, pour avoir accepté la tâche d'évaluer mon manuscrit, mais aussi pour leurs questions et conseils le jour de la soutenance. Je remercie également le Dr. Eric Kremer d'avoir bien voulu assister à ma thèse, ainsi que pour la réflexion qu'il a pu amener sur les aspects cellulaires et moléculaires de mon travail. Enfin, je remercie le Dr. Catherine Le Moine pour avoir accepté de présider ce jury.

Mes remerciements les plus forts vont bien sûr à mes directeurs de thèse, les Drs Etienne Coutureau et Mathieu Wolff. Merci de m'avoir donné la chance de réaliser cette thèse, et de m'avoir guidé et soutenu tout du long. Vos capacités d'écoute et d'attention, et parfois aussi de patience, m'ont permis d'arriver au bout de cette thèse, et me motive pour continuer dans la recherche. Encore une fois, merci pour tout !

Je tiens également à remercier le Dr. Alain Marchand, qui a toujours été d'une grande aide, que ce soit pour la mise au point des protocoles expérimentaux, ou pour des questions plus théoriques comme la compréhension de cette satané équation de Rescorla-Wagner. Je remercie aussi le Dr Jean-Rémi Pape pour toute son aide sur les questions de biologie moléculaire, qui ont permis d'obtenir de belles images de neuroanatomie.

Cette thèse s'est déroulée en cohabitation avec l'équipe Addicteam du Dr Martine Cador, qui nous a accueillis dans ce petit oasis de tranquillité qu'est le bâtiment Tulipe de Charles Perrrens. Je remercie ainsi l'ensemble des membres de l'équipe, les Drs Martine Cador, Stéphanie Caillé-Garnier, Catherine Le Moine et Françoise Dellu-Haguedorne, pour toutes ces interactions scientifiques que j'ai pu avoir avec eux.

Bien sûr, mes années de thèse n'auront pas été les mêmes sans tous ces camarades qui m'ont accompagné. Pendant ma courte visite à Talence, Thomas, Pierre, Malorie et Laurent. Egalement Chloé, pour avoir un temps côtoyé le même bureau que moi, et qui m'a permis de découvrir des films très étranges, à base de filles de l'Est aux mœurs pas très prude qui se reconvertissent dans le catholicisme. Merci au Senor Naneich, pour toutes ces discussions essentielles sur la compréhension de l'univers de Marvel, et pour son intérêt insatiable pour le thalamus. J'espère que j'ai réussi à te convaincre que oui, de temps en temps, le thalamus sert à autre chose que transmettre au cortex les chatouillis dans les pieds. Merci à Virginie Fresno, pour sa bonne humeur à toute épreuve, mais pas pour ses claques dans la tête. J'espère que tous tes petits problèmes d'humidité trouveront rapidement une solution. Merci à ma maman de thèse, Shauna. Grâce à toi, j'ai réussi à aller jusqu'à Chicago, et à y survivre ! Merci également à Renan (Rénin ?), dit le Randomizer, et à Angélique, pour m'avoir remis dans le droit chemin de l'Hygiène et Sécurité, norme ISO 9001 TMT. Merci aussi à Yoan pour avoir pris soin de mes animaux. T'inquiète pas Yoan, le schleuktefeu ou le bar à « chaton » vont finir par marcher, on est juste un peu en avance sur notre temps. Merci à Elisa et à Alexandre, le submédian nous aura fait atteindre la célébrité les gars ! Enfin, merci à Florence, Marie-Lyne, Pascal la Dalle, Clément et Mathieu, qui viennent finir de constituer ce « petit » groupe du midi !

Bien sûr, le thésard a aussi une vie en dehors du laboratoire. Merci à tous le petit groupe de master neuroscience, dont la majorité est maintenant thésard ou en passe de le devenir, pour tous ces excellents moments passés ensemble. Ces petites escapades au Sweeney Todd, nos parties de danse endiablées sur les Pointers Sisters, ou encore nos marches au plafond ont été de bon défouloir !! En espérant passer encore de bon moment avec vous, Bibi, Sandrine, Saucisse, Fab Chaudasse, Mika, Recker, Julie, Chandrou, Hélène, Cédric, Brice, Ade, Dud et tous ceux que j'oublie.

Merci également à ceux que j'appelle les Master 2, mais qui n'en sont plus depuis longtemps, pour tous nos moments sympas (spécial cassdédi aux soirées Daim !). Mention spéciale à Charlotte et Magalie, merci pour le petit cadeau ! Merci également à Charlotte, qui a toujours été là, en particulier ce jour des résultats du concours de l'école doctorale. Et

puis bien sûr à tous les copains de Dordogne, pour tous nos voyages et fiestas Périgourdines !

Bien sûr, je n'en serais pas là sans mes parents. Merci à vous de m'avoir poussé et donné les moyens de réussir, et de m'avoir toujours encouragé dans tous mes projets. Merci également à mon frère, Antoine, qui m'a permis de revoir mes bases en Biologie. Et à ma sœur Morgane, qui a toujours été là, et qui m'a permis de décompresser au travers de nos petits voyages.

Enfin, tout ceci n'aurait pas été possible sans la présence à mes côtés de ma chère et tendre, Emma. Depuis ce fameux jour de l'an 2009, tu as suivi l'ensemble de mon parcours. Malgré des moments difficiles, tu as toujours été là, tu m'as soutenu et supporté jusqu'au bout. En particulier dans les derniers mois précédant la soutenance, tu as été d'une patience et d'une écoute à toute épreuve, sans lesquels tout ceci aurait été beaucoup plus difficile. Encore une fois, merci pour tout, ta présence m'a été précieuse.

RÉSUMÉ

La capacité des organismes à survivre dans un environnement changeant dépend largement de leur aptitude à prendre des décisions adaptées. Cette fonction complexe résulte notamment de l'intégration de processus de prédiction et de contrôle de l'action, classiquement étudiés dans le corpus théorique et méthodologique des apprentissages associatifs. Les bases neurobiologiques de ces processus sont largement distribués au sein de circuits au sein desquels le cortex préfrontal et son afférence principale, le thalamus médiodorsal (MD) jouent un rôle important. Dans ce contexte, le travail entrepris au cours de ce travail de thèse visait à déterminer le rôle fonctionnel des échanges entre ces deux structures dans le cadre de la prise de décision.

Une première partie de ce travail a visé à confirmer le rôle spécifique du MD dans les processus de prise de décision. Par l'utilisation d'un protocole expérimental nécessitant l'intégration des contingences instrumentales et Pavloviennes pour obtenir une récompense, nous avons démontré que des rats porteurs d'une lésion du MD n'étaient pas capables d'adapter leur comportement en fonction des changements de valeur de la récompense, confirmant ainsi le rôle fondamental du MD dans la représentation du but. Sur la base de ce résultat, nous avons ensuite entrepris une étude d'anatomie descriptive visant à caractériser finement l'architecture des projections thalamocorticales issues du MD. Cette étude nous a permis de démontrer que de multiples voies thalamocorticales issues du MD trouvent leur origine dans des populations neuronales thalamiques essentiellement ségréguées mais également que la région orbitofrontale était innervée par une région thalamique méconnue, le thalamus submédian. Pour éprouver les fonctions de ces différentes voies, nous avons d'abord mis en place une stratégie d'inactivation réversible de populations neuronales sélectionnées sur la base de leurs projections spécifiques par une méthode pharmacogénétique conditionnelle. L'utilisation de cette méthode nous a permis de révéler que la capacité de l'animal à se représenter la valeur ou la relation action-récompense dépend de la direction des échanges entre le MD et le cortex préfrontal médian. Par ailleurs, une approche lésionnelle comparée plus classique nous a permis d'identifier un rôle fonctionnel spécifique du thalamus submédian dans la mise à jour des contingences Pavloviennes.

Pris dans leur ensemble, ces résultats sont en accord avec l'idée que des boucles thalamocorticales distinctes sont impliquées dans les processus de prédiction et de contrôle de l'action nécessaires à une prise de décision adaptée.

Mots-clés: Prise de décision / Apprentissage associatif / Prédiction / Contrôle de l'action / Cortex préfrontal / Thalamus médiodorsal / Thalamus submédian / Boucle thalamocorticale / Anatomie / Pharmacogénétique / Rat

Abstract: Thalamocortical networks of decision making

Survival of living organisms depends on the ability to make decision adapted to their current needs and desires. Such an ability results from the integration of multiple basic cognitive processes such as events prediction and action control. These processes are best investigated within the framework of associative learning. Past research has demonstrated that these processes are supported by a widespread neuronal circuit, in which the prefrontal cortex and his major afferent structure, the mediodorsal thalamus (MD), play a central role. In this context, this thesis work aimed at investigating the functional role of the exchanges between these two structures in decision making.

In a first part of this work, we assessed the role of the MD in prediction and control. We showed that MD lesioned rats are unable to adapt their behavior to a change in reward value, in an experimental procedure asking the integration of instrumental and Pavlovian contingencies. This result confirmed the fundamental role of MD in goal representation. As a second step, we performed an anatomical study in order to characterize the architecture of the thalamocortical pathways arising from the MD. We first showed that multiple thalamocortical pathways originate from segregated neuronal populations within the MD. We also discovered a poorly known thalamic structure innervating the orbitofrontal cortex, the submedius nuclei. In order to understand the functional role of these pathways, we used a conditional chemogenetic technique aimed at inactivating neuronal populations selected on the basis of their projections. Using this technique, we showed that the animal's abilities to represent either the value or the action-reward relationship depend on the directionality of MD and prefrontal cortex exchanges. Finally, we identified a specific role for the submedius nuclei in updating Pavlovian contingencies, by using a more classical lesioning approach.

Taken together, these results support the idea that decision making involved several thalamocortical loops, differentially supporting prediction and action control.

Key words: Decision-making / Associative learning / Prediction / Action control / Prefrontal cortex / Mediodorsal thalamus / Submedius thalamus / Thalamocortical loop / Anatomy / Chemogenetic / Rat

SOMMAIRE

AVANT-PROPOS	3
REMERCIEMENTS	7
RÉSUMÉ	11
INTRODUCTION GENERALE	19
Chapitre 1 : La décision	21
l) La prise de décision	21
1) Processus élémentaires de la prise de décision	21
2) Etudes expérimentales de la décision chez le rongeur	23
a) Risque	23
b) Délai	24
c) Effort	25
d) Flexibilité	25
e) Motivation	28
f) Mémoire de travail	28
3) Bases neurobiologiques de la décision	29
Chapitre 2 : Cortex préfrontal et thalamus	31
l) Le Cortex Préfrontal	31
1) Définition et anatomie du cortex préfrontal	32
2) Nouvelle nomenclature des aires préfrontales chez le rongeur	34
3) Connectivité des aires préfrontales	37
a) Efférences	37

b) Afférences.....	38
II) Le thalamus médiodorsal.....	40
1) Le thalamus : une région fortement hétérogène	40
2) Définition et anatomie du thalamus médiodorsal.....	43
3) Rôles fonctionnels du thalamus médiodorsal (PUBLICATION 1)	44

Chapitre 3 : Bases associatives de la décision

I) Bases théoriques et neurobiologiques de la prédiction	47
1) Le conditionnement Pavlovien : modèle d'étude de la prédiction	47
a) Les contingences Pavloviennes	48
b) La représentation de la récompense.....	51
c) Récapitulatif des processus cognitifs au sein de la prédiction.....	54
2) Bases neurobiologiques de la prédiction.....	55
a) Structures impliquées dans les processus de prédiction	55
b) Acquisition et mise à jour de la valeur de stimuli prédictifs	56
c) Dégradation de contingence Pavlovienne.....	57
d) Données électrophysiologiques	57
e) Synthèse	60
II) Le conditionnement instrumental	62
1) Théories S-R du conditionnement instrumental.....	62
2) Vers les actions dirigées vers un but.....	63
a) Le critère du but	63
b) Le critère de contingence	65
3) Les habitudes	67
4) Les conditions de contrôle de la réponse	68
a) Programmes de renforcement	68

b)	Facteurs de l'environnement	70
c)	Codage de la valeur	71
d)	Processus en retour (Feed-Back function)	71
5)	Théories actuelles : Parallèle, Séquentiel, Hiérarchique ?.....	72
6)	Interactions entre contingences pavloviennes et instrumentales	73
7)	Synthèse	75
8)	Circuits neuronaux des actions et habitudes.....	76
a)	Lésions pré-apprentissage et réponses dirigées vers un but	76
b)	Encodage des associations A-O	79
c)	Encodage des changements durant la dévaluation ou la dégradation de contingence	81
d)	Utilisation des informations lors du test	82
e)	Habitudes.....	82
f)	Circuits des actions et habitudes chez l'Homme.....	83

OBJECTIFS

86

CONTRIBUTION EXPERIMENTALE.....

88

Chapitre I : Thalamus médiodorsal et représentation du but

(PUBLICATION 2).....

90

Chapitre II : Architecture des voies thalamocorticales issues du

thalamus médiodorsal (MANUSCRIT 1)

93

I) Méthode d'étude des voies anatomiques

93

1) Injection simple de traceur rétrograde.....

95

a) Révélation du dextran – Comparaison 3kDa vs 10kDa.....

95

b) Révélation du dextran – Amplification du signal.....

96

2) Double injection des traceurs et analyse d'image.....	98
a) Révélation des dextrans.....	99
b) Acquisition des images	100
c) Analyse des images – Inclusion sur l'atlas stéréotaxique	101
d) Analyse des images – Marquages des neurones.....	102
e) Analyse des images – Colocalisation	103
f) Analyse des images – Report des neurones sur l'atlas et comptage	105
Parallel inputs from the mediodorsal thalamus to the prefrontal cortex in the Rat.....	107

Chapitre III : Connectivité fonctionnelle des boucles

thalamocorticales (MANUSCRIT 2).....

I) Méthodes d'étude du contrôle de l'action par le conditionnement instrumental .	145
1) Paramètres expérimentaux	145
a) Ordre des protocoles instrumentaux	145
b) Choix des manipulanda	145
2) Matériel et méthodes	146
3) Résultats.....	149
4) Conclusion.....	152
II) Inhibition sélective de neurones sélectionnés par leurs projections spécifiques ...	153
1) Approche pharmacogénétique	153
2) Cibler une population neuronale sur la base de ses projections spécifiques.....	154
III) Contrôle thalamocortical de l'action dirigée	156

Chapitre IV : Rôle du thalamus submédian dans les processus de

prédiction(PUBLICATION 3)

DISCUSSION GÉNÉRALE

I) Substrats corticaux et thalamiques de la prise de décision.....	163
--	-----

1) Rôle du thalamus médiodorsal dans la prise de décision.....	163
2) Hétérogénéité fonctionnelle du cortex préfrontal	165
3) Hétérogénéité fonctionnelle du thalamus limbique.....	166
II) Circuits thalamocorticaux et contrôle de l'action.....	168
1) Inhibition pharmacogénétique de la voie thalamocorticale	168
a) Représentation de la valeur	168
b) Mise à jour de la contingence instrumentale.....	169
2) Inhibition pharmacogénétique de la voie corticothalamique	170
3) Direction des échanges fonctionnels dans les circuits thalamocorticaux	171
III) Implications fonctionnelles de l'organisation en boucles thalamocorticales.....	172
1) Des circuits cortico-thalamo-corticaux	172
2) Mise à jour des représentations	174
3) Identification des éléments pertinents de l'environnement.....	176
CONCLUSIONS	178
BIBLIOGRAPHIE	180

INTRODUCTION GENERALE

Chapitre 1 : La décision

Comme le souligne P. Holland en 1990 : «Pour s'adapter aux variations à court terme dans leur environnement, les animaux doivent être sensibles au flux d'événements autour d'eux. Ils doivent s'ajuster à la texture causale de leur monde». Cette capacité d'adaptation fondamentale, largement conservée chez les mammifères, est assurée par un ensemble de fonctions cognitives telles que la sélection des informations pertinentes, le rappel et le maintien des informations en mémoire de travail et les processus de planification et de contrôle. L'intégration de haut niveau de ces fonctions permet au sujet de décider, c'est-à-dire d'exprimer un choix en rapport avec ces besoins et désirs (Chudasama et Robbins, 2006 ; Fuster, 2001 ; Ridderinkhof et al., 2004).

1) La prise de décision

Dans un environnement en perpétuel changement, la prise de décision constitue un processus fondamentalement intégratif correspondant à l'association de processus cognitifs complexes (encodage, maintien et récupération de l'information) avec des processus motivationnels déterminant la valeur des actions ou des séquences d'actions (Balleine et Ostlund, 2007 ; Graybiel, 2008). L'environnement de l'individu étant le plus souvent complexe et dynamique, plusieurs choix sont possibles avec des conséquences plus ou moins définies et immédiates. L'expérience d'un choix permet d'en appréhender les conséquences, et ainsi d'orienter les décisions futures. Une prise de décision inadaptée caractérise plusieurs pathologies psychiatriques telles que l'addiction, la schizophrénie ou les troubles obsessionnels compulsifs (Ernst et Paulus, 2005 ; Paulus, 2007), donnant lieu à des choix défavorables ou à l'exécution d'actions non pertinentes.

1) Processus élémentaires de la prise de décision

Les processus à la base de la décision sont étudiés depuis de nombreuses années par plusieurs disciplines telles que la neurologie et la neuropsychiatrie (Bechara et al., 1994), les neurosciences cognitives et comportementales (Glimcher, 2002 ; Platt et Glimcher, 1999) ou encore les sciences robotiques et l'économie comportementale. Très récemment,

l'apparition de nouvelles disciplines transdisciplinaires telles que la neuroéconomie, a permis de fédérer les concepts et de disséquer les processus cognitifs et computationnels à la base de la prise de décision, comme l'illustre la **Figure 1** (Rangel, Camerer et Montague, 2008).

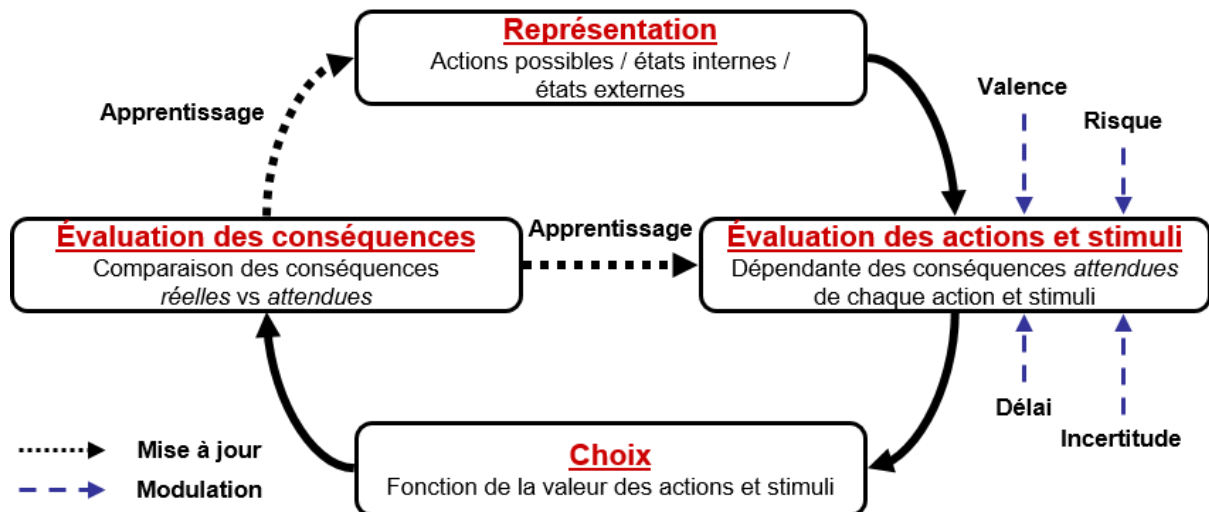


Figure 1: Processus cognitifs élémentaires de la décision (adapté de Rangel et al., 2008).

Représentation de la situation

La première étape correspond à la **représentation de la situation** qui implique la représentation des différentes options et actions possibles. Elle intègre la représentation des états externes (éléments du contexte) et des états internes (états motivationnels).

Evaluation des actions et des stimuli

La seconde étape est une étape d'évaluation, durant laquelle le sujet va **évaluer chaque action possible**. L'attribution de valeur intègre non seulement de nombreux éléments relatifs à l'action elle-même mais aussi à ses conséquences attendues. L'évaluation intègre également la valence (positive/négative), la magnitude (rapport coût/bénéfice), la probabilité d'obtention (incertitude), ainsi que le délai d'obtention.

Choix

Le troisième processus consiste à choisir, c'est-à-dire à **sélectionner l'action** la plus pertinente avec le but recherché. La sélection se fait à partir de la comparaison entre elles des valeurs des différentes actions et représente la phase d'expression comportementale de la décision.

Evaluation des conséquences

Une fois le choix effectué, le sujet **évalue les conséquences réelles de son action et peut les comparer aux conséquences attendues**. La différence entre les deux valeurs constitue un puissant **signal d'apprentissage** permettant la mise à jour des représentations afin d'optimiser les choix ultérieurs.

2) Etudes expérimentales de la décision chez le rongeur

Les mécanismes de la décision normale et pathologique ont été étudiés de manière intensive chez l'Homme par le biais de tests neuropsychologiques. Ces tests permettent de modéliser des situations de choix complexes entre plusieurs actions et d'étudier les substrats neurobiologiques sous-jacents, notamment par des techniques d'imagerie par IRM. Chez l'animal, les tests développés sont généralement des versions simplifiées des tests utilisés chez l'Homme. De par cette simplification, ils permettent d'étudier certains des processus cognitifs sous-jacents et leurs substrats neurobiologiques de manière approfondie. Nous nous concentrerons ici sur certains de ces tests.

a) Risque

Face à un environnement changeant, les conséquences des actions sont peu connues, en particulier lors des choix initiaux. La volatilité de l'environnement implique donc l'exploration, de manière à apprendre les conséquences des différentes options envisageables. Cette phase d'exploration est souvent suivie d'une phase d'exploitation, qui correspond aux choix des options dont les conséquences sont les moins risquées, et donc les plus récompensantes. Ces processus sont à l'heure actuelle étudiés chez l'Homme au travers de l'*Iowa Gambling Task* (IGT), initialement développé par A. Bechara afin d'étudier les déficits de prise de décision dont souffraient certains patients cérébrolésés (Bechara et al., 1994). Le test met en jeu des processus de choix entre plusieurs actions dans une situation à la fois incertaine, risquée et conflictuelle. Lors du test, le sujet doit choisir de tirer une carte entre quatre tas disponibles. Chaque carte permet au sujet de gagner immédiatement un somme d'argent définie, le but du test étant de maximiser ces gains. Cependant, chaque carte peut également être associée avec une perte d'argent selon une probabilité définie.

Ainsi, les choix sur deux tas (C et D) représentent des options *favorables* car ils permettent des gains plus faibles à court terme mais avec des pertes également plus faibles à long terme. A l'inverse, les choix sur les deux autres tas (A et B) représentent des options *défavorables* puisqu'ils donnent accès à des sommes plus importantes dans l'immédiat mais sont associés à des pertes plus importantes sur la totalité du test. Afin de maximiser ses gains, le sujet doit dans un premier temps déterminer la règle du jeu puis choisir préférentiellement les tas de cartes favorables. Ce test permet notamment d'explorer l'effet de l'incertitude, créée par la variabilité des gains et des pertes, et du conflit entre gains à court terme et pertes à long terme.

Récemment, des versions plus ou moins élaborées de ce test ont été mis au point chez le rongeur (van den Bos, Koot et de Visser, 2014 ; Orsini et al., 2015 ; Rivalan, Ahmed et Dellsu-Hagedorn, 2009 ; Rivalan et al., 2011 ; Zeeb, Robbins et Winstanley, 2009). Dans un test typique d'évaluation des options, l'animal doit choisir entre des options associées à des quantités de récompense différentes, comme illustré sur la Figure 2.

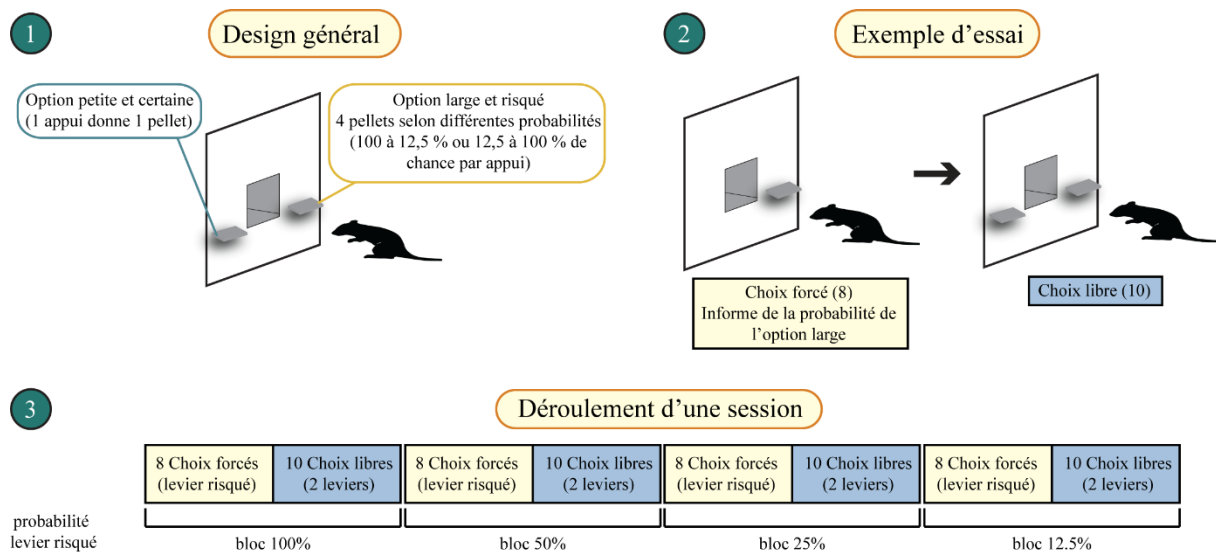


Figure 2 : Choix basé sur le risque (adapté de Orsini et al., 2015). Durant une session divisée en bloc, l'animal doit garder en mémoire les choix passés de manière à choisir l'option la plus profitable. A l'issue de l'entraînement, les animaux sélectionnent l'option la plus favorable (4 récompenses) lorsque la probabilité qui lui est associée est forte mais pas lorsque est faible.

b) Délai

Le plus souvent, l'accès à la récompense n'est pas immédiat. Et le sujet doit intégrer le temps séparant son choix de la récompense. Dans les tests complexes tels que les versions rongeurs de l'IGT, l'aspect temporel est souvent pris en compte mais il peut directement

être étudié au travers de procédures de « *delay-based decision making task* » (Cardinal, 2006 ; Cardinal et al., 2002, 2004). Dans un tâche typique de ce type, l'animal doit choisir entre obtenir une petite quantité de récompense immédiatement ou une quantité plus importante à l'issue d'un délai. La préférence des animaux pour les récompenses immédiates traduit souvent l'impulsivité des animaux, à la base des déficits de contrôle inhibiteur.

c) Effort

De toute évidence, l'effort physique à produire pour choisir l'option la plus bénéfique rentre en compte dans les processus d'évaluation. Chez l'animal, deux types de tâches basées sur des principes identiques sont classiquement utilisées (« *effort-based decision making tasks* »). Dans la première procédure, les animaux sont placés dans un labyrinthe en T et doivent choisir entre deux bras contenant des quantités différentes de récompense. Cependant, l'obtention d'une quantité importante de récompense nécessite le franchissement d'un obstacle (Salamone, Cousins et Bucher, 1994). Dans la seconde tâche, la modulation de l'effort sur le contrôle de l'action se fait sur le nombre d'appuis sur différents leviers à effectuer par l'animal pour obtenir différents niveaux de récompense (Shafiei et al., 2012).

d) Flexibilité

Décider dans un environnement changeant nécessite également d'exprimer un comportement flexible. Cette capacité correspond à la faculté de se désengager de stratégies devenues inadaptées. Chez l'Homme, le test classiquement utilisé est le « *Wisconsin Card Sorting Test* » (WCST) (Grant et Berg, 1948), comme illustré sur la **Figure 3**. Le sujet, par essais erreurs, doit découvrir la règle de tri des cartes (par couleur ou par forme). Une fois cette première règle acquise, l'expérimentateur change de règle. L'individu doit donc faire preuve de flexibilité, c'est-à-dire se désengager d'un comportement désormais inadapté à la situation. Il doit cesser d'exploiter son environnement pour l'explorer à nouveau, afin d'identifier les nouveaux éléments pertinents.

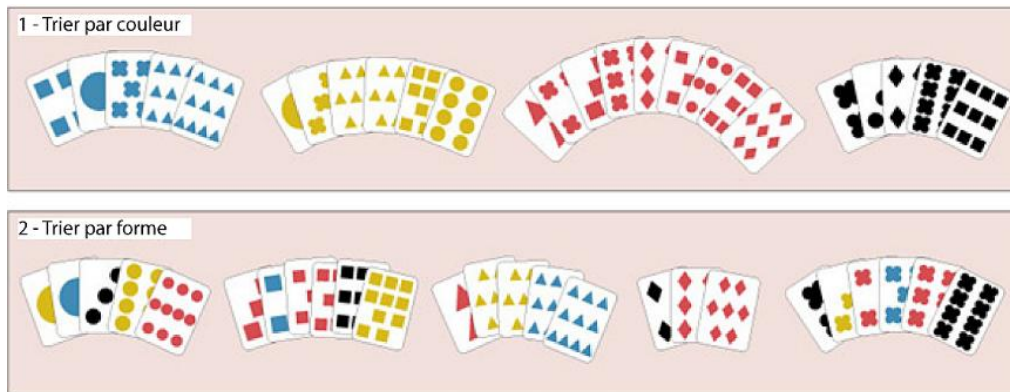


Figure 3 : Tâche du Wisconsin Card Sorting Test. En fonction des cartes dans sa main et sur la table, le sujet doit trouver la règle pour les trier. Dans cet exemple, il doit d'abord trier par couleur. Puis la règle change en 2, le sujet doit maintenant adapter son comportement pour trouver une nouvelle règle de tri, ici un classement par forme.

Attentional set shifting

A la fois chez le primate et le rongeur, les processus de flexibilité comportementale lors d'un changement de règle peuvent être étudié par des tâches similaires d' « *attentional set-shifting* » (Floresco et Jentsch, 2011). L'animal doit discriminer deux options pour obtenir de la nourriture selon une caractéristique sensorielle particulière (ex : odeur 1) sans tenir compte des autres (ex : texture). A la suite de cela, l'expérimentateur change la règle et l'animal doit alors se concentrer sur une autre caractéristique de même catégorie (ex : odeur 2 ; « *shift intra-dimensionnel* »), ou d'une catégorie différente (ex : texture ; « *shift extra-dimensionnel* ») (Figure 4). Tout comme lors du WCST, l'adaptation de l'animal nécessite une représentation correcte des règles de la tâche ainsi qu'une mise à jour de ces dernières.

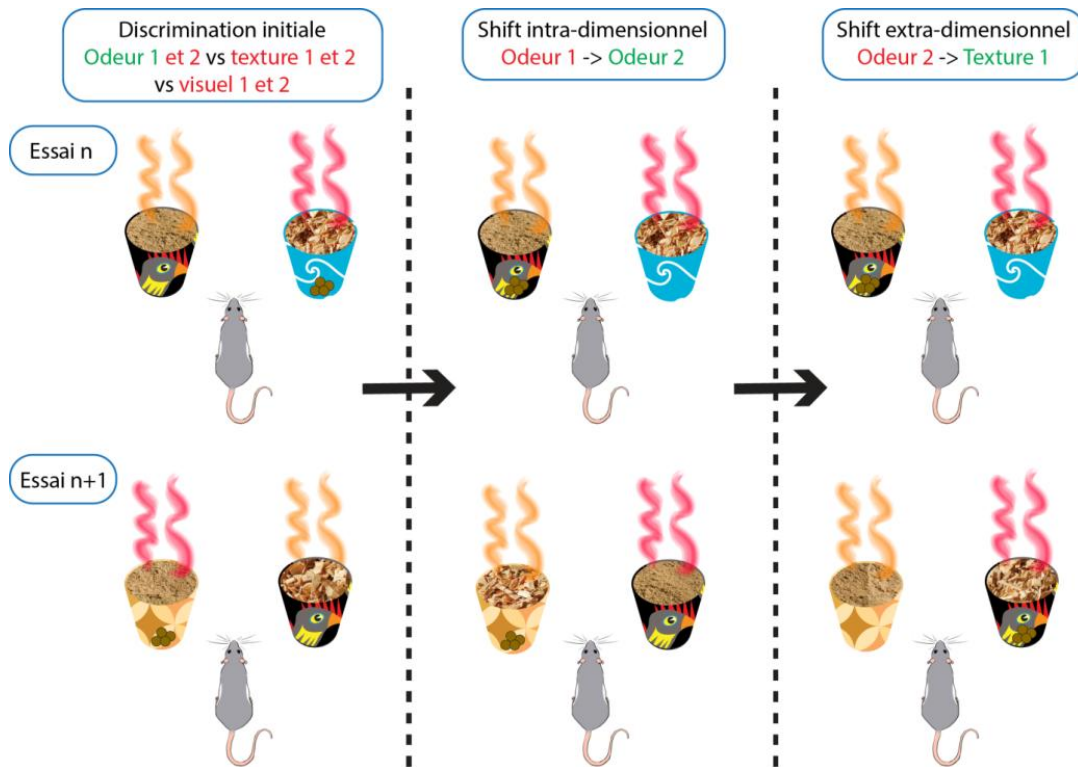


Figure 4 : Principe d'une tâche d'*attentional set-shifting*.

Inversion de règles

Le contrôle inhibiteur est un processus par lequel l'animal va pouvoir se désengager de stratégies devenues inutiles. Dans l'expérience précédente, à chaque shift dimensionnel, l'animal doit se désengager d'une stratégie au profit d'une nouvelle, faisant intervenir ce processus. Mais ce contrôle inhibiteur peut être étudié via des protocoles plus simples d'inversion de règle. Ce protocole peut être par exemple réalisé dans un labyrinthe en T, dans lequel l'animal doit apprendre à aller dans le bras contenant un indice visuel pour obtenir une récompense, l'autre bras n'étant jamais récompensé. Suite à cet apprentissage, une inversion de règle est effectuée, et c'est maintenant le bras sans indice visuel qui contient la récompense. L'animal doit alors inhiber son ancien comportement afin de se désengager d'une ancienne stratégie, au profit d'une nouvelle. Cependant, il faut bien noter que là encore le contrôle inhibiteur ne suffit pas à lui seul pour réussir la tâche, qui demande également de mobiliser les ressources attentionnelles pour détecter les changements dans l'environnement.

e) Motivation

Les processus motivationnels jouent un rôle important dans la décision. Néanmoins, il convient de dissocier le besoin du désir, qui correspondent respectivement aux théories de l'homéostasie et de l'hédonisme (Berridge, 2004 ; Reuchlin, 1981). La première théorie implique que l'origine de toute motivation est de combler un déséquilibre physiologique. Ainsi, le sujet engage un ensemble de comportements visant à satisfaire **un besoin** de manière à ramener l'organisme à l'équilibre homéostatique. Si cette idée fonctionne bien pour les motivations primaires (la faim, la soif, la protection de l'organisme), elle ignore les aspects hédoniques. En effet, un acte peut également être motivé par la recherche du plaisir, contenu dans l'aspect hédonique du but poursuivi.

f) Mémoire de travail

La mémoire de travail correspond aux processus permettant de garder des informations "en ligne" temporairement, mais également de les manipuler pour accomplir une tâche (Levy et Goldman-Rakic, 2000). Chez le Rat, cette capacité peut être étudiée notamment par des protocoles d'alternance renforcée avec intervalle de temps (DNMS, « *delayed non-matching to sample* »). Lors d'une première phase d'échantillonnage, l'animal est déposé dans un labyrinthe en T, dont seul un bras est accessible et récompensé (**Figure 5A**). Lors d'une deuxième phase de test, les deux bras sont disponibles, et le bras précédemment non visité est appâté. L'animal doit alors alterner pour obtenir une récompense. Ce test est très facile à réaliser pour l'animal, puisqu'il renforce sa tendance naturelle à alterner. Cependant, l'introduction d'un délai entre la référence et le test nécessite de garder l'information de la référence en mémoire afin de faire le bon choix lors du test. D'une manière générale, la performance de l'animal diminue avec l'augmentation du délai. Ainsi, une performance plus basse chez des animaux ayant reçu une lésion cérébrale par rapport aux animaux Contrôle à l'introduction du délai sera caractéristique d'un déficit de mémoire de travail (**Figure 5B**).

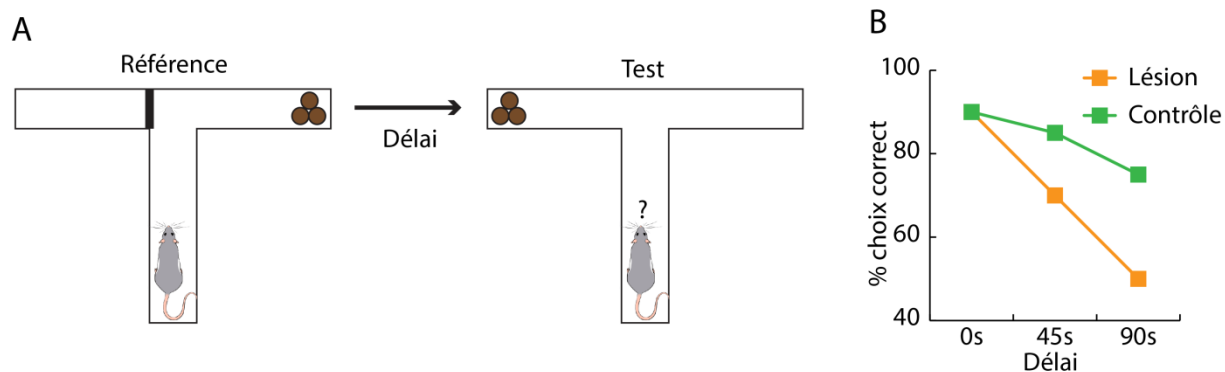


Figure 5 : (A) Test d'alternance renforcée par intervalle de temps. (B) Exemple fictif de résultats lors du test.

Dans ce test, l'animal doit garder en mémoire une information spatiale. Mais selon le même principe, il est également possible de tester la capacité des animaux à garder en mémoire une information motrice (tourner à gauche à l'essai 1, tourner à droite à l'essai 2), ou une information visuelle (reconnaitre un même objet d'un essai à un autre) et une information olfactive.

3) Bases neurobiologiques de la décision

Ces dernières années, de nombreuses études ont permis de déterminer l'implication de boucles cortico-thalamo-striatales dans différents aspects de la décision chez le rongeur (**Figure 6**). En particulier, l'analyse subtile des processus cognitifs a permis d'identifier le rôle de 3 structures majeures : le cortex préfrontal (Birrell et Brown, 2000 ; Boulougouris, Dalley et Robbins, 2007 ; Dias, Robbins et Roberts, 1996 ; Ragozzino, Detrick et Kesner, 1999 ; Schoenbaum et al., 2002), le thalamus médiodorsal (Block et al., 2007 ; Chudasama, Bussey et Muir, 2001b ; Cross et al., 2012 ; Hunt et Aggleton, 1998) et le noyau accumbens (Floresco, Ghods-Sharifi, et al., 2006 ; Jongen-Rêlo, Kaufmann et Feldon, 2003). A ceci s'ajoute le rôle prépondérant de la dopamine, qui exerce un rôle neuromodulateur puissant sur ce circuit (Crofts et al., 2001 ; Floresco, Magyar, et al., 2006 ; Goto et Grace, 2005 ; Ragozzino, 2002). Les données neurobiologiques plus particulièrement pertinentes au vu des objectifs de cette thèse seront exposés avec plus de détail dans le chapitre III.

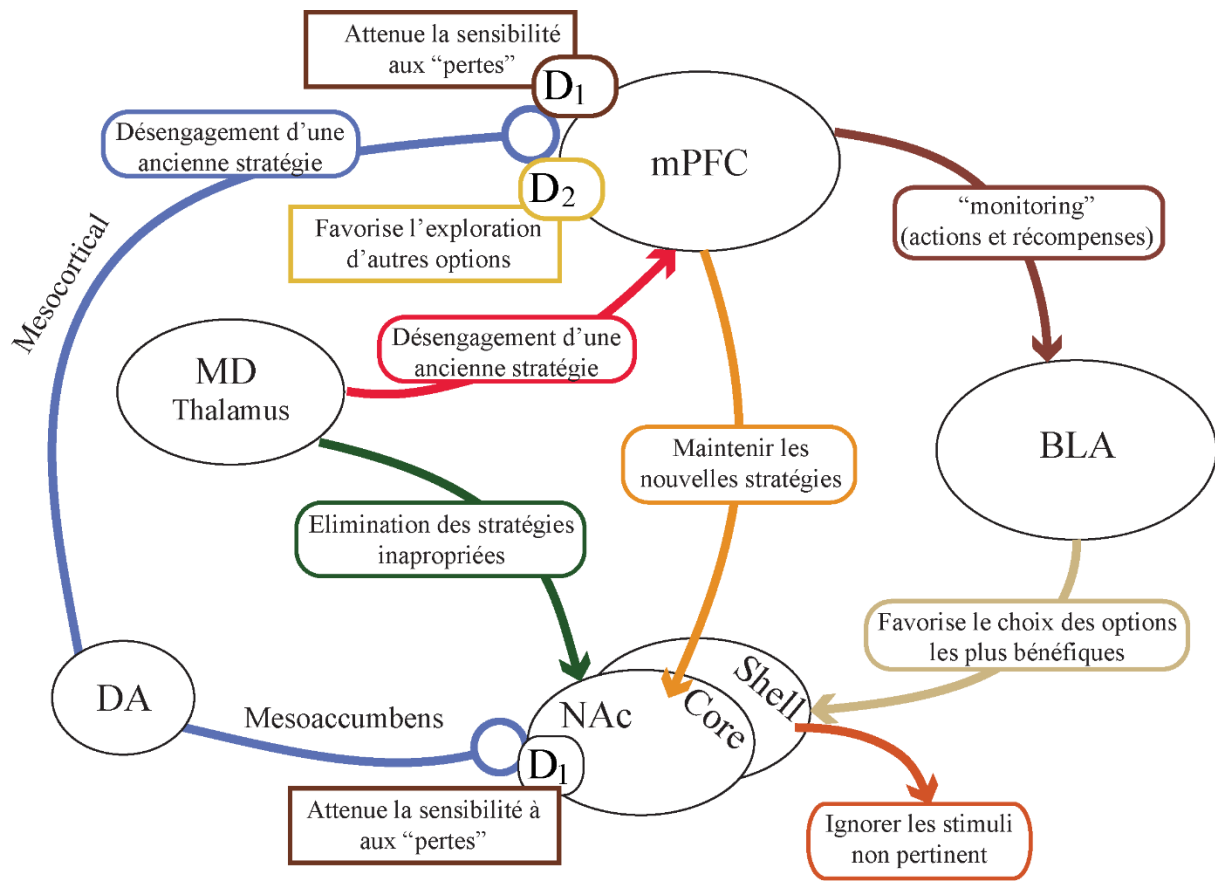


Figure 6: Principales structures impliquées dans la prise de décision. Adapté de Floresco et al., 2009 et 2015.

Chapitre 2 : Cortex préfrontal et thalamus

Comme souligné dans le chapitre 1, la prise de décision regroupe un ensemble de processus cognitifs en interactions. L'étude des substrats neurobiologiques de ces processus a fait l'objet ces dernières années de nombreux travaux concernant le cortex préfrontal et le thalamus médiodorsal, qui sont au cœur de mon travail de thèse.

I) Le Cortex Préfrontal

Chez le primate, le cortex préfrontal correspond à la zone corticale la plus antérieure du lobe frontal. Initialement, Brodmann (Brodmann, 1909) définit le cortex préfrontal par la présence d'une couche IV granulaire. Cette définition initiale exclusivement cytoarchitecturale exclut alors de fait la présence de cette région chez de nombreuses espèces moins évoluées que les primates, et en particulier chez les rongeurs. Rose et Woolsey proposent alors de définir le PFC par un critère exclusif de connectivité : la région préfrontale se définit comme une zone recevant une innervation majoritaire issue du noyau médiodorsal du thalamus (Rose et Woolsey, 1948). Même si cette caractéristique est commune à l'ensemble des mammifères (Uylings et van Eden, 1990 ; Uylings, Groenewegen et Kolb, 2003), ce critère unique de définition est apparu assez précocement insuffisant (Preuss, 1995). Uyling notamment fait le constat qu'au moins cinq critères semblent nécessaires pour qualifier de préfrontale une région corticale. Il s'agit en particulier de considérer au-delà de la simple (1) connectivité, (2) les propriétés fonctionnelles (données lésionnelles ou électrophysiologiques), (3) le profil d'expression de certains marqueurs moléculaires (notamment l'expression de récepteurs ou de neurotransmetteurs), (4) le développement embryonnaire et enfin (5) la cytoarchitecture, lorsque les espèces considérées sont très proches. Une analyse minutieuse en favorisant principalement les trois premiers de ces critères permet alors de conclure clairement en faveur de l'existence d'une région préfrontale chez le rongeur, homologue de celle existant chez les primates (Uylings, Groenewegen et Kolb, 2003).

1) Définition et anatomie du cortex préfrontal

Comme l'ensemble du néocortex, le PFC s'organise selon 6 couches cellulaires parallèles (**Figure 7A**). La couche I, ou couche moléculaire, est composée d'axones organisés parallèlement à la surface corticale, et de dendrites des neurones des couches inférieures. La couche II, ou couche granulaire externe, contient des neurones pyramidaux de petites tailles, recevant principalement des afférences des autres zones corticales. La couche III, couche pyramidale externe, est constituée de cellules pyramidales desquelles sont issues la majorité des efférences préfrontocorticales. La couche IV, ou couche granulaire interne, est particulièrement développée chez l'Homme et correspond à la zone de projection principale des afférences du thalamus médiodorsal. Chez le rongeur, cette couche n'est pas différenciée et la qualité granulaire, en particulier, fait défaut. Elle serait de fait fusionnée avec la couche V. Cette dernière, la couche pyramidale, contient un grand nombre de neurones pyramidaux projetant vers les zones sous-corticales. Enfin la couche VI, couche polymorphe, présente des cellules pyramidales projetant vers le thalamus médiodorsal en particulier (Gabbott et al., 2005).

Les neurones qui composent le cortex préfrontal sont majoritairement de deux types : des cellules pyramidales excitatrices glutamatergiques et des interneurons GABAergiques inhibiteurs. Les premières présentent des profils de taille variable selon la couche concernée, et projettent aussi bien localement que vers d'autres structures corticales et sous-corticales. Les interneurons projettent localement et permettent une régulation de l'activité des cellules glutamatergiques (**Figure 7B**). Différentes classes d'interneurones peuvent être définies sur la base de critères morphologiques (cellules de Chandelier ou en « double bouquet », voir **Figure 7B**), électrophysiologiques (« fast-spiking »), moléculaires (cellules exprimant différentes protéines de liaison calcique comme la parvalbumine ou la calbindine) ou de leurs sites d'actions (axonal ou dendritique). Cette complexité traduit l'existence de micro-circuits préfrontaux dont l'activité peut être régulée finement (Arnsten et Jin, 2014 ; Opris et Casanova, 2014 ; Opris et al., 2013).

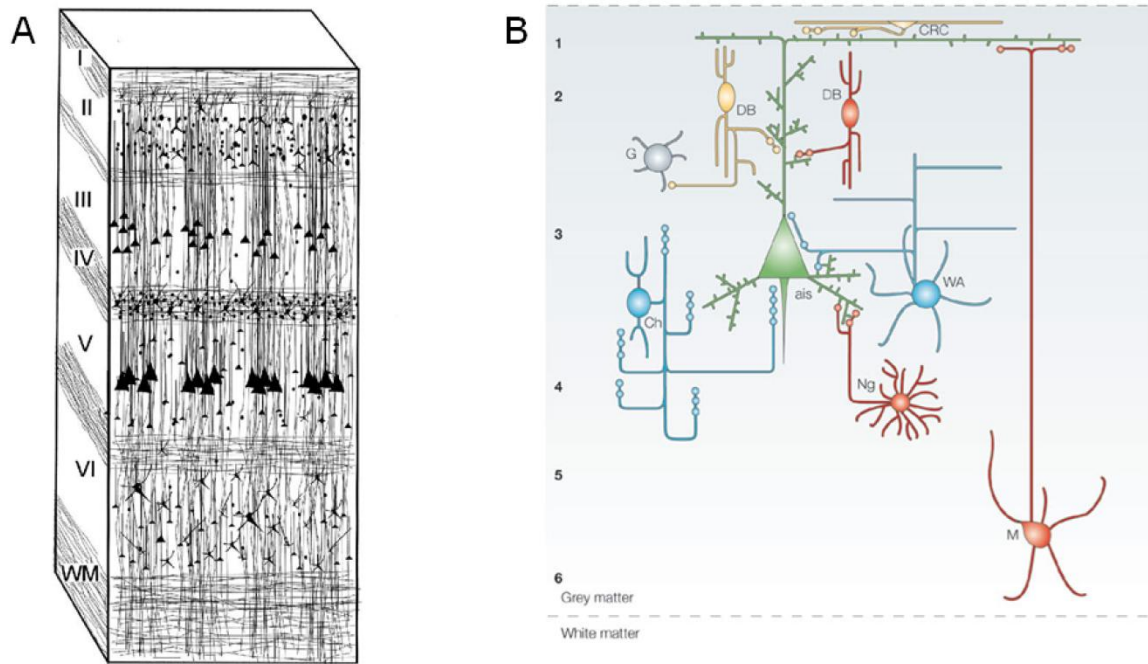


Figure 7 : A. Cytarchitecture du cortex préfrontal. I à VI : couches corticales ; WM : substance blanche. B. Organisation des microcircuits préfrontaux. Les cellules pyramidales (vert) sont modulées par différents types d'interneurones aux morphologies distinctes. Ch : cellules en chandelier ; WA : cellules en panier ; M : cellules de Martinotti ; Ng : cellules neurogliaformes ; DB : cellules en double bouquet ; CRC : cellules de Cajal-Retzius. Les couleurs correspondent aux différentes protéines de liaisons calciques : parvalbumine (bleu), calbindine (rouge) et calrétinine (jaune) (adapté de Lewis et al., 2005).

- Cortex préfrontal chez le primate

Chez le primate, le cortex préfrontal est subdivisé en une région ventrale, dorsale et médiane. La partie dorsale est composée majoritairement du cortex préfrontal dorsolatéral (dlPFC, aires de Brodmann 8, 9 et 46). La partie ventrale correspond au cortex ventrolatéral (vlPFC, aires 44, 45 et 47) ainsi qu'au cortex orbitofrontal (OFC, aires 11, 12 et 47). Enfin la partie médiane, comprenant le cortex cingulaire antérieur (ACC), correspond aux aires 24, 25, 32 et 33. Enfin, il faut rajouter le cortex rostral ou frontopolaire (aires 10), situé dans la partie la plus antérieure du PFC (**Figure 8**).

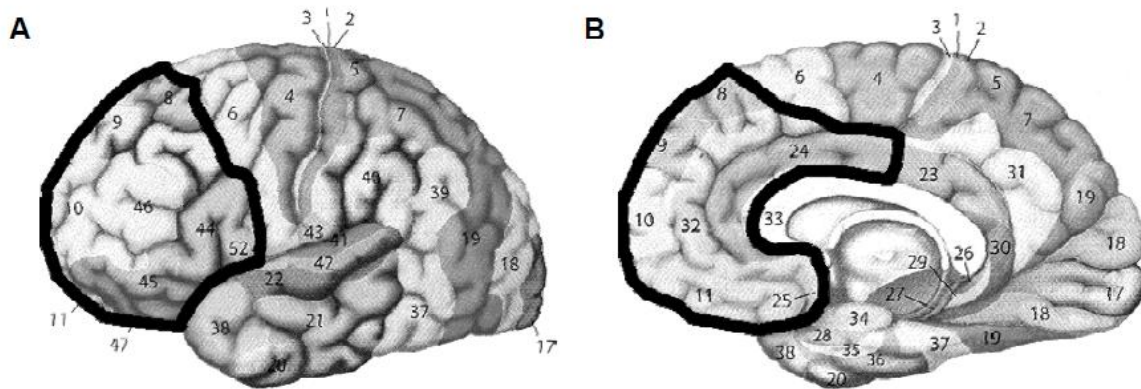


Figure 8 : Représentations en vue latérale (A) et sagittale (B) du cerveau humain avec les différentes aires corticales selon la classification de Brodmann. Le cortex préfrontal correspond à la zone découpée en noir.

- **Cortex préfrontal chez le rongeur**

Chez le Rat, le cortex préfrontal correspond aux structures se situant entre le bulbe olfactif et le cortex moteur primaire M1. Il peut également se subdiviser en trois grandes régions (

Figure 9B) (Dalley, Cardinal et Robbins, 2004 ; Heidbreder et Groenewegen, 2003 ; Ongur, 2000) :

- au niveau médian : le **cortex préfrontal médian** (mPFC) est une région relativement hétérogène qui comprend, selon un axe dorso-ventral, le cortex cingulaire (Cg1 et Cg2), le cortex prélimbique (PL), le cortex infralimbique (IL) et le cortex orbital médian (MO).

- au niveau ventral : le **cortex orbitofrontal** (OFC) comprend le cortex orbital ventral (VO) et le cortex latéral orbital (LO), auxquels on adjoint parfois une région ventrolatérale intermédiaire (VLO) (Van De Werd et Uylings, 2008).

- au niveau latéral : le cortex insulaire antérieur (IC).

2) Nouvelle nomenclature des aires préfrontales chez le rongeur

Ainsi, la terminologie concernant les aires préfrontales est très différente chez le primate et le rongeur, ce qui complique singulièrement toute entreprise visant à établir une homologie fonctionnelle de ces régions chez ces espèces. Cette difficulté résulte largement de l'importance historique du critère de connectivité propre au rongeur, définissant le cortex préfrontal comme l'aire corticale innervée préférentiellement par le thalamus médiodorsal

(Rose et Woolsey, 1948), et qui n'a jamais été utilisée chez le primate (Vogt et Vogt, 2004). La nécessité de doter les primates et les rongeurs d'une terminologie cohérente pour mieux intégrer l'ensemble des données de la littérature est apparue assez précocement et on doit en particulier à Brent Vogt un travail de fond visant à redéfinir les bases de la région cingulaire chez les mammifères. Ainsi, si le cortex cingulaire antérieur est sommairement défini par sa position antérieure par rapport au gyrus cingulaire, Vogt observe que cette région est structurellement hétérogène. En effet, une zone de transition est visible au sein du cortex cingulaire antérieur, par le passage d'une couche IV granulaire à une couche IV agranulaire (Vogt et Vogt, 2004). De plus, le niveau d'expression de certaines protéines est différent dans ces deux zones (Vogt et al., 2005, 2001).

Enfin, des différences de connectivité, en particulier avec le thalamus ainsi que des profils d'activités différents tels que révélés par des études d'imagerie fonctionnelle chez l'homme conduit Vogt à différencier le cortex cingulaire antérieur en une région cingulaire antérieure dite périgénuale (proche du genou du corps calleux), et en une région cingulaire médiane. Ainsi, selon Vogt, chez l'Homme **les aires préfrontales sont au final conçues comme une déclinaison quadripartite de la région cingulaire** avec une partie antérieure périgénuale, une région médiane (elle-même déclinée en pôles antérieur et postérieur) et une région postérieure (Vogt, 2005).

En suivant cette logique, **Vogt propose une déclinaison tripartite similaire des aires préfrontales chez le rongeur** (la région cingulaire médiane n'est pas différenciée en pôles antérieur et postérieur) en proposant la dissociation fondamentale entre régions antérieure et médiane du cortex cingulaire (ACC / MCC) selon des critères anatomiques et de connectivité (Vogt, Rosene et Peters, 1981 ; Vogt et al., 2001). En s'appuyant sur les travaux de Gabott (Gabott et al., 2005), Vogt propose une partition dorsoventrale de l'aire prélimbique et surtout, plaide pour l'abandon de la terminologie relative au terme limbique chez le rongeur (Gabbott et al., 2005 ; Vogt et al., 2013 ; Vogt et Paxinos, 2014). Selon lui, cette terminologie est inadaptée (les termes pré- et infralimbiques suggèrent que les régions concernées ne sont pas comprises dans le système dit « limbique », soit impliquées dans les fonctions cognitives et émotionnelles) et complique l'intégration avec les données issues de la recherche chez le primate qui n'emploie pas ces termes (Vogt & Paxinos, 2014). L'ensemble de ces propositions ont finalement été intégrées dans la septième et dernière

itération de l'atlas de Paxinos et Watson (Paxinos et Watson, 2013) de la façon suivante (Figure 9B):

- L'aire 32d correspond à la partie dorsale de l'aire prélimbique et à l'aire Cg1
- L'aire 32v correspond à la partie ventrale de l'aire prélimbique
- L'aire 25 correspond à l'aire infralimbique.

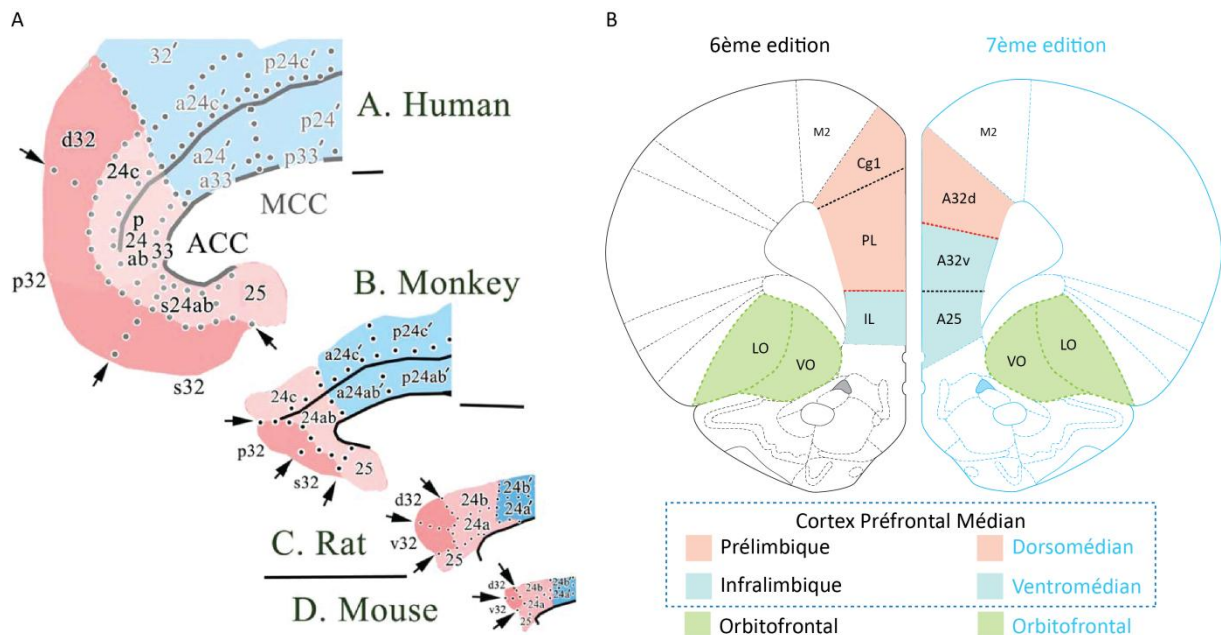


Figure 9 : (A) Région cingulaire chez l'Homme, le Singe, le Rat et la Souris (Vogt et al., 2014). (B) Coupe frontale du cortex préfrontal du rat montrant l'évolution entre la 6^{ème} et la 7^{ème} édition de l'atlas de Paxinos et Watson. La frontière (tirets rouge), séparant la partie dorsale (rouge) de la partie ventrale (bleue), située initialement entre le PL et l'IL dans la 6^{ème} édition est maintenant située entre l'aire 32d et 32v.

Pour la suite de ce manuscrit, je continuerai à employer les anciennes définitions du mPFC. Ce choix est dû au fait que la majorité des informations concernant le PL et l'OFC provient d'études utilisant cette nomenclature. Cependant, mes travaux essaient progressivement d'inscrire mes résultats selon la nouvelle nomenclature, tel qu'il apparait notamment dans mon **manuscrit n°1**.

3) Connectivité des aires préfrontales

a) Efférences

Striatum

La majorité des efférences prennent comme point de départ la couche V du cortex. Les efférences issues du mPFC présentent un gradient dorsoventral dans l'innervation du striatum : alors que les régions les plus dorsales projettent majoritairement vers le striatum dorsal (DS), les régions ventrales (IL et PL ventral) projettent vers le striatum ventral (VS) (P. L. A. Gabbott et al., 2005 ; Vertes, 2004). Au plan quantitatif, l'innervation du VS et du DS est équivalente, ce qui suggère un rôle central du mPFC dans la sélection des différents circuits striataux. Le cortex orbitofrontal projette sur les parties centrales du striatum, selon un gradient médiolatéral : les parties les plus médianes de l'OFC projettent sur les zones centromédianes du striatum, et les parties les plus latérales de l'OFC sur les zones centrolatérales du striatum (Schilman et al., 2008).

Amygdale basolatérale

Les projections vers l'amygdale basolatérale ne concernent dans leur ensemble que les structures les plus ventrales du mPFC (PLv, IL et MO). Ces projections sont issues des couches II et V du mPFC. En revanche, la partie la plus dorsale du mPFC (Cg1) ainsi que l'OFC ne projettent pratiquement pas vers l'amygdale basolatérale (Gabbott et al., 2005 ; Hoover et Vertes, 2011 ; Vertes, 2004).

L'ensemble des aires préfrontales projettent vers l'hypothalamus latéral, suggérant une forte influence du mPFC sur les fonctions endocrines. Les neurones projetant vers cette structure sont retrouvés dans l'ensemble des couches exceptée la couche I, avec la plus grosse proportion dans les couches V et VI (Gabbott et al., 2005). D'une manière générale, l'ensemble des aires préfrontales projettent vers la VTA, le noyau du raphé et la substance grise périaqueducatale. Cependant, l'IL projette dans une plus grande proportion vers les structures du tronc cérébral et du cerveau antérieur (Vertes, 2004). Enfin, le PFC projette

également massivement vers le thalamus médiodorsal. La majorité des cellules de projection sont contenues dans la couche VI, et dans une moindre mesure dans la couche V (Gabbott et al., 2005 ; Groenewegen, 1988) (**Figure 10**).

Ainsi, l'organisation topographique selon l'axe dorso-ventral a amené l'hypothèse d'une dichotomie fonctionnelle avec un circuit viscéro-moteur issu de l'IL et un circuit limbique-cognitif issu du PL (Vertes, 2004).

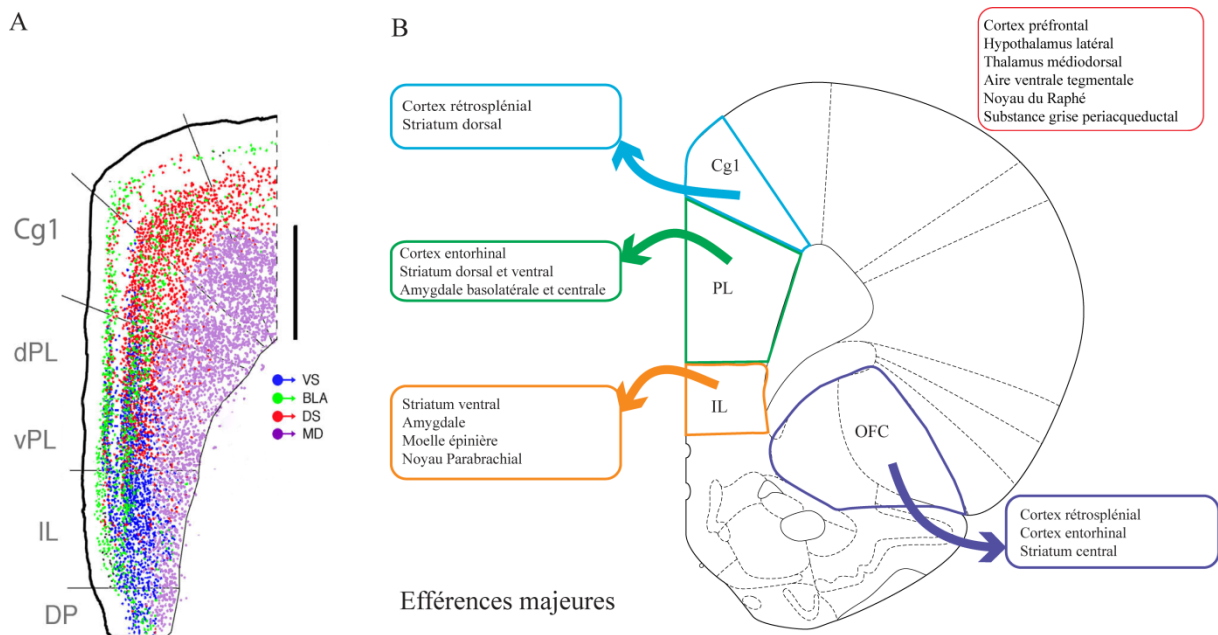


Figure 10 : (A) Projections des principales subdivisions du mPFC vers les structures principales de l'encéphale (d'après Gabbott et al., 2005). (B) Profil d'efférences majeures des zones préfrontales.

b) Afférences

Cg1

L'aire Cg1 est largement innervée par diverses sources corticales correspondant aussi bien à des aires associatives comme les cortex pariétal, rétrosplénial, périrhinal ou sensorielles comme les aires visuelles. Cette aire est également innervée par le thalamus, notamment les noyaux de la ligne médiane et les noyaux ventraux.

PL

Le PL est la cible privilégiée d'un grand nombre d'afférences multimodales d'origine aussi bien corticales (rétrosplénial, frontal et du cortex préfrontal) que sous-corticales (Gabbott et al., 2003 ; Hoover et Vertes, 2007). Dans les deux cas, ces projections sont

largement singularisées par une origine limbique (cortex préfrontal, amygdale basolatérale, noyaux thalamiques médians). Ce constat est renforcé par l'existence de projections issues de la formation hippocampique, en particulier de CA1 et du subiculum (**Figure 11**).

IL

De la même façon, l'IL reçoit majoritairement des afférences issues des aires limbiques corticales et sous-corticales. Ainsi, ses afférences lui parviennent majoritairement du cortex insulaire, de la formation hippocampique, de l'amygdale basolatérale et des noyaux thalamiques de la ligne médiane. Cela étant, l'IL est également une cible majeure pour certaines structures du tronc cérébral, telles que l'aire tegmentale ventrale, la substance grise périaqueducale ou les noyaux du raphé (**Figure 11**, Hoover and Vertes, 2007).

OFC

L'OFC reçoit une majorité d'informations issues d'aires cérébrales associées avec les composantes sensorielles, telles que l'olfaction, le goût, la vision et les sensations somatiques (Ongur, 2000 ; Price, 2007). Les afférences proviennent ainsi du cortex olfactif primaire, du cortex piriforme, du cortex insulaire agranulaire, du cortex sensoriel SI et SII et du cortex temporal inférieur. De plus, l'OFC reçoit des informations de structures limbiques, en particulier l'amygdale basolatérale, le cortex rétrosplénial et entorhinal, et le thalamus médian (**Figure 11**).

Ainsi, il est possible de dégager l'existence d'un gradient dorsoventral au sein du mPFC avec la zone la plus dorsale (Cg1) innervée par des sources corticales et thalamiques sensorimotrices tandis qu'une zone plus ventrale (PL/IL) est plus spécifiquement la cible de sources limbiques (Hoover et Vertes, 2007). Ainsi, la formation hippocampique, et en particulier l'aire CA1, innerve préférentiellement l'IL et le PL au détriment de l'aire Cg1 (Carr et Sesack, 1996 ; Hoover et Vertes, 2007 ; Jay et Witter, 1991). Par ailleurs, l'ensemble des aires préfrontales sont fortement interconnectées (**Figure 11**). L'ensemble des aires préfrontales est innervé par le claustrum, le cortex insulaire, l'amygdale basolatérale, et par certains noyaux du tronc cérébral, en particulier l'aire tegmentale ventrale (Hoover et Vertes, 2007).

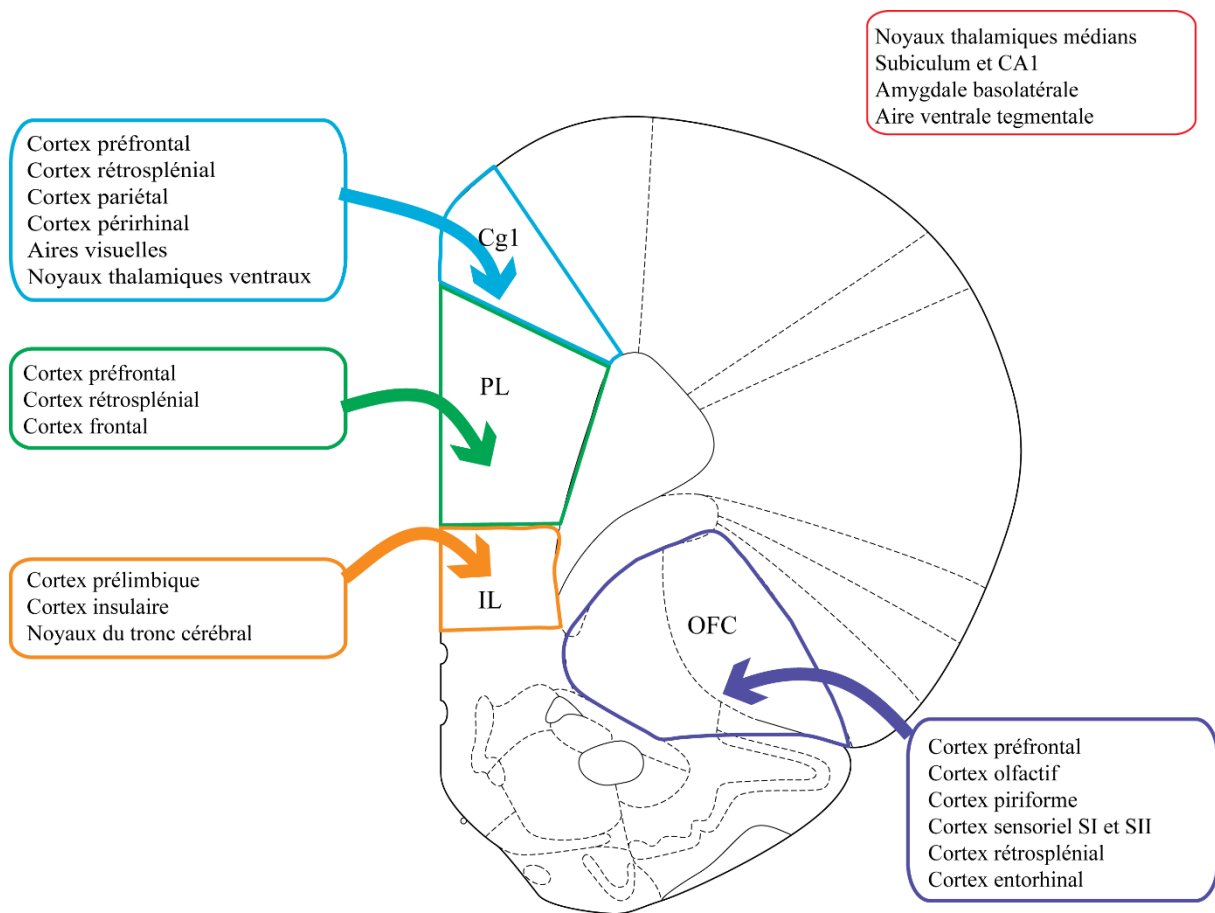


Figure 11 : Afférences majeurs du cortex préfrontal. Les zones cérébrales projetant sur l'ensemble du préfrontal sont encadrées en rouge.

II) Le thalamus médiodorsal

1) Le thalamus : une région fortement hétérogène

Nous avons déjà largement évoqué qu'un lien anatomique très étroit caractérise l'organisation réciproque des connexions entre le cortex préfrontal et le **noyau médiodorsal du thalamus (MD)**. Afin d'aborder les données disponibles relatives à cette dernière région dans de bonnes conditions, il convient de la replacer dans la perspective plus générale du **thalamus**. Cette structure **diencephalique** se singularise en effet par sa grande complexité. Il s'agit d'une région profonde, fortement différenciée puisque constituée par une soixantaine de noyaux (**Figure 12**) hétérogènes, dont la plupart sont caractérisés par une connectivité fonctionnelle spécifique. La position dorsomédiane préminente du MD, ainsi que sa

connectivité privilégiée avec le cortex préfrontal expliquent qu'il s'agit probablement de la structure thalamique la plus étudiée à ce jour.

Pour appréhender la complexité structurelle du thalamus, la première classification à voir le jour a été proposée par Aduini et Macchi en 1957. Elle proposait de définir les noyaux thalamiques selon la nature « spécifique » ou « non-spécifique » de leurs projections corticales. Ainsi, les noyaux thalamiques projetant vers des loci corticaux bien identifiés sont considérés comme spécifiques, tandis que ceux présentant des afférences plus diffuses relèvent d'une catégorie « non spécifique » (Macchi et Bentivoglio, 1999). Néanmoins, il est apparu relativement précocement que cette distinction était artificielle et reposait assez largement sur l'état incomplet de notre connaissance de l'architecture des projections thalamocorticales. Ainsi, les noyaux de la ligne ventromédiane, dont le noyau *reuniens* est un représentant, ont initialement été catégorisés comme non-spécifiques alors même que leur spectre de projection corticale n'est pas moins diffus que celui du thalamus médiodorsal (Cassel et al., 2013 ; Groenewegen et Berendse, 1994).

A l'heure actuelle, cette classification a été largement abandonnée dans la littérature spécialisée au profit d'une nomenclature alternative reposant sur des considérations physiologiques. C'est à Sherman que l'on doit ainsi la distinction entre noyaux thalamiques dits de « premier ordre » (« first order »), ayant vocation à relayer directement l'information sensorielle au niveau cortical, et noyaux thalamiques « d'ordre élevé » (« higher order»), qui impliquent la possibilité d'établir des boucles thalamocorticales par de multiples étapes synaptiques (Sherman, 2012). La classification dans l'une ou l'autre de ces catégories dépend essentiellement du type d'afférences que reçoivent les neurones thalamiques, qui peuvent être proches des corps cellulaires pour influencer directement sur leur activité (« Driver », Type I), ou plus distales, pour une influence essentiellement modulatrice (« Modulator », Type II). Ainsi, les noyaux thalamiques de premier ordre reçoivent l'essentiel de leur afférences de type I de l'étage sous-cortical tandis que les noyaux thalamiques d'ordre élevé reçoivent majoritairement leurs afférences de type I de source corticale. Ce dernier cas implique donc qu'au-delà de la communication directe entre différentes aires corticales, il existe également des voies indirectes au niveau thalamique, qui présentent donc une opportunité d'intégration supplémentaire (Sherman, 2012). Selon cette conception, le thalamus médiodorsal est considéré comme un noyau d'ordre élevé (Sherman, 2012 ; Varela, 2014).

Pour avantageuse qu'elle soit, cette nomenclature reste encore une fois largement dépendante de notre état de la connaissance de la physiologie du thalamus et pour nombre des noyaux constitutifs de cette région, l'identification du type principal (I ou II) des afférences reçues par les neurones thalamiques n'a pas encore été établie (Varela, 2014). Par ailleurs, cette classification se base exclusivement sur des critères physiologiques sans *a priori* sur la nature de l'information qui peut être propagée. Pour cette raison, l'utilisation du terme « limbique » perdure dans la littérature spécialisée, pour identifier une catégorie particulière de noyaux thalamiques. Broca a popularisé le terme pour décrire un réseau de structures cérébrales, « le grand lobe limbique » (Broca, 1878), dont le gyrus cingulaire est un élément essentiel comme support de l'expression des émotions. Papez revoit les limites anatomiques de ce système, au sein duquel le cortex cingulaire est toujours prépondérant (Papez, 1995) avant que Delay et Brion (Delay et Brion, 1969) révisent cette notion de système « émotionnel », pour y intégrer les fonctions cognitives. Ainsi, c'est la région corticale cingulaire dans son ensemble qui a été qualifiée de limbique et par extension, les noyaux thalamiques innervant ces zones corticales ont également été qualifiés de « limbiques » (Vogt and Gabriel, 2013). A l'heure actuelle, le consensus qui prévaut est que le thalamus limbique correspond aux noyaux qui ont une influence directe sur les processus cognitifs et qui de fait, projettent vers la région cingulaire. Il s'agit principalement des noyaux antérieurs (incluant le noyau latérodorsal), du noyau médiodorsal, des noyaux intralaminaires, des noyaux de la ligne médiane, des noyaux ventraux antérieurs et médians, et du pulvinar.

Au final, on voit donc que le thalamus médiodorsal correspond assurément à une région importante du thalamus puisqu'il apparaît successivement comme l'afférence majeure du cortex préfrontal, comme une région dotée d'un potentiel intégratif (noyau d'ordre élevé) et, en tant que structure limbique, comme une région appelée à jouer un rôle important dans les processus cognitifs.

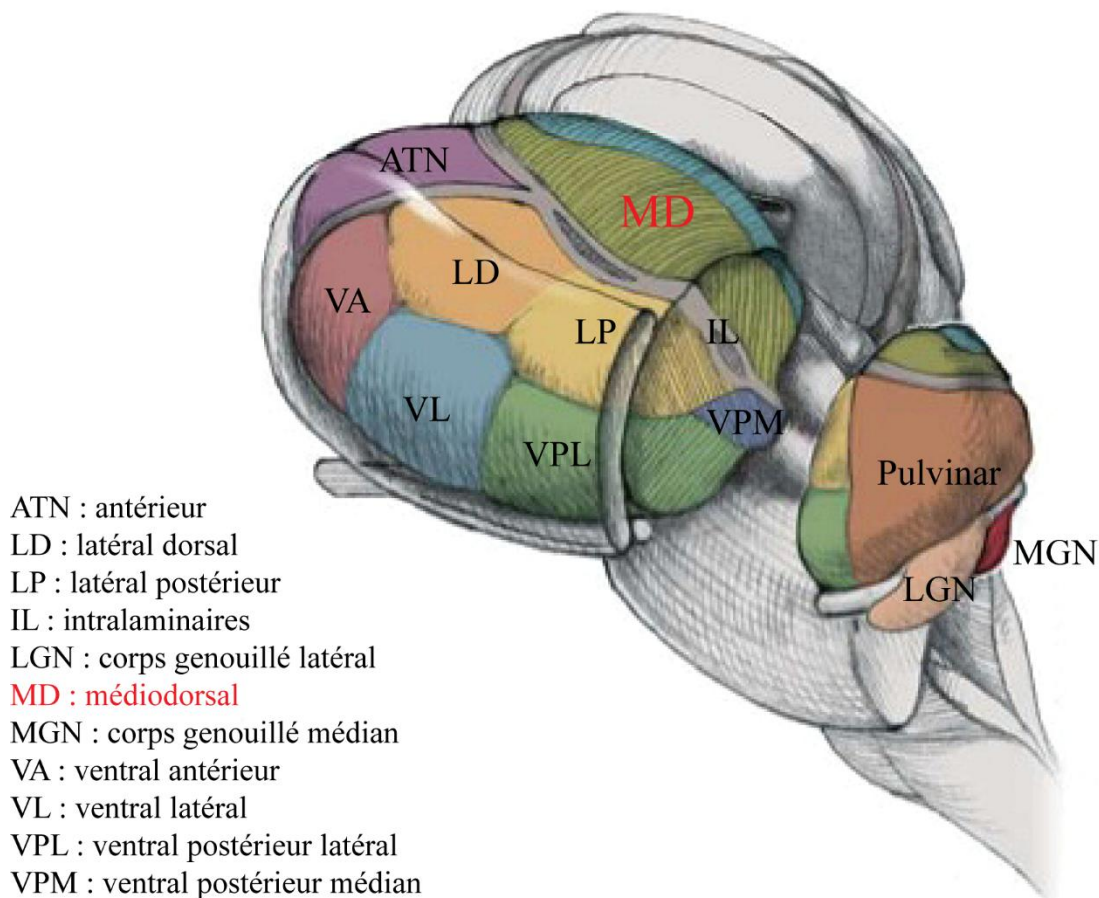


Figure 12 : Schéma des principaux noyaux thalamiques.

2) Définition et anatomie du thalamus médiodorsal

Ce noyau est situé ventralement par rapport à la région dorsale de l'hippocampe et aux ventricules latéraux. Il est délimité par des faisceaux de fibres blanches constituant la lame médullaire interne qui l'isole notamment des noyaux intralaminaires adjacents. Le MD est subdivisé en trois segments respectivement latéral, central et médian. Bien qu'il n'existe pas de marqueurs spécifiques pour ces différents segments (Clascá, Rubio-Garrido et Jabaudon, 2012 ; Rubio-Garrido, Pérez-de-Manzo et Clascá, 2007), une simple coloration des corps cellulaires permet de les différencier, ce qui a permis d'établir un profil de connectivité au moins partiellement différentiel au sein de ces trois segments (Goldman-Rakic et Porrino, 1985 ; Groenewegen, 1988 ; Ray et Price, 1992 ; Reep, Corwin et King, 1996).

Une organisation classique caractérise la topologie des connections thalamocorticales : les couches profondes (V et VI) innervent le MD tandis que les couches

superficielles (I et III) sont la cible de l'innervation issue de cette région. Comme le montre la **Figure 13**, chaque segment du MD fait l'objet de projections relativement spécifiques. En retour, le MD innerve largement l'ensemble du cortex préfrontal. Ce point particulier faisant l'objet de l'une de mes contributions expérimentales par un travail d'anatomie descriptive correspondant au **manuscrit n°1**, il ne sera pas détaillé davantage ici.

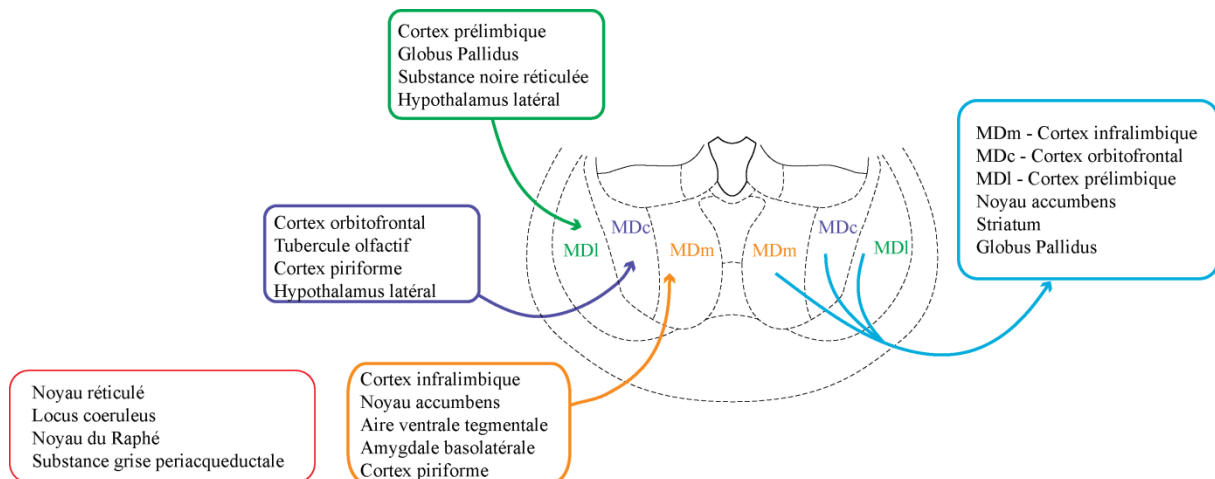


Figure 13 : Principales afférences et efférences du thalamus médiodorsal. Les afférences communes sont encadrées en rouge. Les afférences du thalamus médiodorsal font apparaître plusieurs réseaux : les afférences provenant du cortex prélimbique et de la sortie des ganglions de la base innervent le segment latéral du thalamus, le segment central est innervé par le cortex orbitofrontal et un ensemble de structures sensorielles. Le Mdm est innervé par le cortex infralimbique et un ensemble de structure limbique. Les efférences vers le cortex préfrontal sont symétriques aux afférences. Le MD innerve également les ganglions de la base.

Enfin, il est notable que les neurones du MD sont exclusivement glutamatergiques. En effet, au sein du thalamus, les interneurons inhibiteurs sont présents uniquement dans le noyau réticulé (Vogt and Gabriel, 2013).

3) Rôles fonctionnels du thalamus médiodorsal

L'intérêt pour appréhender le rôle fonctionnel du thalamus médiodorsal est déjà ancien et remonte à l'existence de cas cliniques relativement courants dont les symptômes typiques ont été rapidement caractérisés (dès la fin du 19ème siècle, Kopelman et al., 2009). Ces cas correspondent au syndrome de Korsakoff, une démence d'origine diencephalique dont le développement avancé s'accompagne d'une amnésie sévère, aussi bien rétrograde qu'antérograde. Si ces troubles mnésiques sont essentiellement comparables aux amnésies d'origine temporale, au plan clinique, ils sont associés exclusivement à des lésions diffuses du diencephale affectant de multiples sites comme le thalamus antérieur, les corps

mammillaires et le thalamus médiodorsal. Identifier le site particulier dont les dommages sont les plus systématiquement associés aux troubles mnésiques n'est pas une tâche aisée et le thalamus médiodorsal a fait longtemps figure de candidat sérieux (Victor, Adams et Collins, 1971), même si, à l'heure actuelle, des données solides plaident en faveur d'un rôle plus prépondérant pour les dommages du thalamus antérieur (Aggleton et Brown, 1999 ; Harding et al., 2000). Toutefois, si des propositions théoriques ont été formulées pour préciser l'implication fonctionnelle du thalamus médiodorsal par rapport à la région antérieure adjacente (Aggleton et Brown, 1999 ; Carlesimo, Lombardi et Caltagirone, 2011 ; Pergola et Suchan, 2013), l'étude de cas cliniques même récents continue d'alimenter une certaine confusion (Carlesimo, Lombardi et Caltagirone, 2011 ; Hampstead et Koffler, 2009 ; Kril et Harper, 2012).

Fort de ce constat, nous avons pris le parti de synthétiser les données de la littérature relatives aux études expérimentales conduites chez le rongeur, qui permettent d'établir clairement que ces régions adjacentes ont des identités fonctionnelles dissociables. Cette synthèse correspond à la **Publication 1**. De façon schématique, les points que nous développons sont les suivants :

1. D'une façon générale, le thalamus limbique occupe une position stratégique entre le lobe temporal médian et certaines régions corticales spécifiques avec lesquelles des connections réciproques sont établies.
2. Dans ce cadre, le thalamus antérieur contribue de façon cruciale à un système hippocampique étendu correspondant au circuit de Papez.
3. Le thalamus médiodorsal se positionne quant à lui de façon stratégique entre l'amygdale et le cortex préfrontal.
4. Contrairement à la vision « classique », le thalamus médiodorsal ne semble pas spécifiquement impliqué dans la mémoire de travail.

5. Le thalamus médiodorsal semble impliqué de façon décisive dans le focus attentionnel permettant de mettre en avant les éléments pertinents dans une situation d'apprentissage, dans un système plus « exécutif » que « mnésique ».



Review

Functional heterogeneity of the limbic thalamus: From hippocampal to cortical functions

Mathieu Wolff^{a,b,*}, Fabien Alcaraz^{a,b}, Alain R. Marchand^{a,b}, Etienne Coutureau^{a,b}^a CNRS, INCIA, UMR 5287, 33076 Bordeaux, France^b Université de Bordeaux, INCIA, UMR 5287, 33076 Bordeaux, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 16 June 2014

Received in revised form 22 October 2014

Accepted 12 November 2014

Available online 21 November 2014

Keywords:

Anterior and mediodorsal thalamic nuclei

Diencephalic amnesia

Papez circuit

Ventroamygdalofugal pathway

Spatial and nonspatial cognition

Goal-directed behavior

Attention

Behavioral flexibility

Lesion

System-level disconnection

Rodent

ABSTRACT

Today, the idea that the integrity of the limbic thalamus is necessary for normal memory functions is well established. However, if the study of thalamic patients emphasized the anterior and the mediodorsal thalamus as the critical thalamic loci supporting cognitive functions, clinical studies have so far failed to attribute a specific role to each of these regions. In view of these difficulties, we review here the experimental data conducted in rodents harboring specific lesions of each thalamic region. These data clearly indicate a major functional dissociation within the limbic thalamus. The anterior thalamus provides critical support for hippocampal functions due to its cardinal location in the Papez circuit, while the mediodorsal thalamus may signal relevant information in a circuit encompassing the basolateral amygdala and the prefrontal cortex. Interestingly, while clinical studies have suggested that diencephalic pathologies may disconnect the medial temporal lobe from the cortex, experimental studies conducted in rodent show how this may differently affect distinct temporo-thalamo-cortical circuits, sharing the same general organization but supporting dissociable functions.

© 2014 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Contents

1. Introduction	121
2. The anterior thalamus and hippocampal functions	121
2.1. The anterior thalamus and spatial memory: reference versus working memory	121
2.2. The anterior thalamus and nonspatial memory	122
2.3. The anterior thalamus in the extended system: general and specific functions	123
2.3.1. The anterior thalamus as part of an extended system	123
2.3.2. Specific functions of the anterior thalamus	123
3. The mediodorsal thalamus and frontal functions	124
3.1. The mediodorsal thalamus and spatial memory	124
3.2. The mediodorsal thalamus and working memory	125
3.3. The mediodorsal thalamus and behavioral flexibility	125
3.4. The mediodorsal thalamus and goal-directed behavior	126
3.5. The mediodorsal thalamus: attention to learn	126
4. Conclusion	126
References	127

* Corresponding author at: Institut de Neurosciences Cognitives et Intégratives d'Aquitaines (INCIA), UMR 5287, CNRS/Université de Bordeaux, Université de Bordeaux-Site Carreire, BP31, 146 rue Léo Saignat, 33076 Bordeaux Cedex, France. Tel.: +33 557579507.

E-mail address: mathieu.wolff@u-bordeaux.fr (M. Wolff).

1. Introduction

The observation that discrete damage to restricted parts of the diencephalon can produce an amnesic syndrome similar, in many aspects, to that observed in patients with hippocampal damage is not new. As early as the end of the 19th century, Serguei Korsakoff reported severe impairments of current and recent memory in several patients with or without chronic alcohol abuse (Kopelman et al., 2009). Later on, it was confirmed that these patients typically exhibit diffuse damage at the level of the diencephalon, encroaching on the mammillary bodies (Delay and Brion, 1969) and the thalamus (Victor et al., 1971), which was assumed to be responsible for the memory deficits. Today, it is generally well accepted that the distinction between temporal lobe and diencephalic amnesia has limited, if any value (Carlesimo et al., 2011; Caulo et al., 2005; Gold and Squire, 2006) so that the use of the single term “amnesia” may be sufficient to characterize symptoms that essentially overlap. However, while the neuropathology of temporal lobe amnesia has been identified early due to the availability of several famous clinical cases including Henry Molaison (Annese et al., 2014; Scoville and Milner, 2000), determining specific loci within the diencephalon that invariably produce amnesia when damaged has proven to be a much more difficult task. Damage to either the mammillary bodies (Delay and Brion, 1969), the mediodorsal (Victor et al., 1971) or the anterior thalamus (Harding et al., 2000) have been thought to be primarily responsible for the memory deficits associated with diencephalic amnesia. The use of unbiased stereological techniques has provided convincing support for the view that damage to the anterior thalamus is consistently associated with memory deficits in patients suffering from Korsakoff's syndrome (Harding et al., 2000). However, the diffuse nature of the diencephalic damage in these patients still leaves room for alternate views and it is possible that concurrent damage at both the level of the mammillary bodies and of the anterior and mediodorsal thalamus may best account for the severe memory impairments (Krill and Harper, 2012). In view of these difficulties, an effort has been made to consider another pathological condition of the thalamus resulting in more defined damage, lacunar infarcts targeting the anteromedial portion of the thalamus. A meta-analysis run on 83 patients recently supported the notion that vascular thalamic amnesia may primarily result from damage to the anterior thalamus (Carlesimo et al., 2011). However, the authors still recognized that the anterior and mediodorsal thalamic regions may mediate different aspects of the declarative memory system and that deficits originating from damage to the anterior thalamus may be more easily detectable with neuropsychological tests than deficits resulting from direct damage to the mediodorsal thalamus (Carlesimo et al., 2011). Furthermore, clinical studies continue to provide conflicting information and the case of a patient sustaining bilateral thalamic infarctions with relatively selective mediodorsal, but not anterior thalamic damage was recently documented with the rather surprising description of a typical amnesic syndrome, which included anterograde and retrograde memory impairments while implicit memory was spared (Hampstead and Koffler, 2009).

The major conclusion that can be derived from these clinical studies is that although they invariably demonstrate a crucial contribution of the diencephalon to learning and memory, they do not provide solid ground to establish the specific contribution of the limbic thalamus beyond the observation that the anterior and the mediodorsal thalamus appear as critical loci. Experimental studies conducted in non-human primates and even more in rodents have however led to considerable progress on the identification of the specific functional contributions of these thalamic regions. We will focus here on the experimental evidence derived from rodent studies supporting the existence of dissociable functions within the thalamus. The scope of the present review is therefore to show that

the contribution of the limbic thalamus to cognitive functions can be better understood by considering the specific functional connectivity of each of these thalamic regions with the temporal lobe and the cortex.

2. The anterior thalamus and hippocampal functions

The earliest significant experimental attempt to identify the functions of the anterior thalamus in cognition was probably the work conducted by Michael Gabriel, with a series of experiments in the intact rabbit showing a correlation between neuronal activity in the anteroventral nucleus and discriminative avoidance behavior (Gabriel et al., 1977, 1980; Orona et al., 1982). Subsequently, it was confirmed that anterior thalamic lesions not only impaired this type of behavior but also reduced neuronal activity in a network of connected structures, namely the anterior cingulate and the retrosplenial cortices (Gabriel et al., 1983). This discovery was later supported by extensive experimental evidence indicating a specific role of the anterior thalamic nuclei in an integrated “extended” system encompassing the hippocampus, the mammillary bodies as well as the cingulate region (Freeman et al., 1996a,b; Gabriel et al., 1983; Gabriel and Sparenborg, 1986; Gabriel et al., 1987). Therefore, Gabriel's pioneer work prefigured much of the data subsequently reported in rodents and successfully captured one of the core aspects of the functional connectivity of the anterior thalamus, its integration in a specific temporo-cortical circuit. In the following sections, we will first review the main behavioral data showing an involvement of the anterior thalamus in spatial and nonspatial cognition and then confront these data with those from the hippocampal literature to highlight general and specific functional roles of this region.

2.1. The anterior thalamus and spatial memory: reference versus working memory

Ironically, the early studies from Michael Gabriel relied on an instrumental procedure devoid of any relevant spatial information (rabbits were required to run in a wheel in response to conditioned auditory stimuli), which greatly contrasts with the overwhelming dominance of spatial paradigms in the next generation of studies conducted in the rat. It is likely that this prevalence of spatial studies was initiated by the discovery of the head-direction cells (HD cells, see Section 2.3.2) in a network of structures including the anterior thalamus (Taube, 1995).

Behavioral tests taxing spatial reference memory abilities focus on the use of permanent information. They have been mostly conducted using water maze or radial arm maze procedures, the water maze probably being best suited to study spatial behaviors governed by distal, extramaze cues and allocentric spatial processing. Due to the inherently relational nature of integrated representations of multiple distal cues, such processing is expected to be supported by hippocampal functions (Bird and Burgess, 2008). Early studies conducted with this paradigm indicated a major deficit in rats with anterior thalamic damage, not only after large, moderately specific, electrolytic lesions (Sutherland and Rodriguez, 1989) but also following more refined excitotoxic lesions (Warburton and Aggleton, 1999). In fact, even extensive pretraining does not prevent the occurrence of these deficits after anterior thalamic damage (Warburton et al., 1999). This critical impairment produced by ATN lesions has been confirmed numerous times (Lopez et al., 2009; van Groen et al., 2002a) and it is also clear that damage to the anterior but not the adjacent intralaminar group is responsible for these deficits (Lopez et al., 2009; Moreau et al., 2013; Wolff et al., 2008a). There is also evidence that damage restricted to the laterodorsal nucleus, a region considered

part of the anterior group (Van Groen et al., 1993), produces mild deficits whereas more prominent impairments occur when the damage extends to the other anterior thalamic nuclei (van Groen et al., 2002b). Beyond these classic approaches, the Morris water maze also provides means to study more explicitly the flexibility of relational spatial representations. It is possible, for instance, to perform initial training using a constant start point and to assess the flexibility of spatial representations on subsequent probe trials where the animal is released from different, unique start points (Eichenbaum, 2000; Eichenbaum et al., 1990). In this task, ATN rats show a profound deficit even during the initial training stage with the constant start point. However, they can eventually catch up with controls over prolonged testing. Nevertheless, subsequent probe trials revealed a disproportionately impaired performance on trials with the new start points, showing that these rats are unable to use learned information in occurrences differing from past experience, that is, to make flexible use of spatial representations (Wolff et al., 2008b). These studies therefore point to a major and specific role for the anterior thalamus in spatial navigation, especially when distal cues are essential for successful performance. Support for this view is not limited to studies using the Morris water maze since appetitively motivated tasks in the radial arm maze have yielded similar conclusions (Aggleton et al., 1996; Alexinsky, 2001; Byatt and Dalrymple-Alford, 1996; Mitchell and Dalrymple-Alford, 2005, 2006; Moran and Dalrymple-Alford, 2003) even when working memory errors were prevented (Mendez-Lopez et al., 2013).

The latter precision is important because the functions of the anterior thalamus have also been largely assessed using a spatial reinforced procedure requiring working memory (nonmatching to place). In fact, the most consistently documented deficits seen after anterior thalamic lesions are probably those observed when ATN rats are required to choose the alternate goal arm after a forced visit to a sample arm in either a “T-” or a “cross-” maze (Aggleton et al., 1996, 2009, 2011; Alexinsky, 2001; Loukavenko et al., 2007; Warburton and Aggleton, 1999; Warburton et al., 1999, 2001; Wilton et al., 2001). The use of a cross-maze enables a more explicit assessment of spatial functions as pure egocentric strategies cannot lead to successful performance when the start arm differs between the sample and the test runs. Results from these tests indicate that anterior thalamic lesions disrupt allocentric but not egocentric strategies (Aggleton et al., 1996; Warburton et al., 1997). Spatial working memory thus also appears to depend on the integrity of the anterior thalamus. One important question is therefore to determine whether disruption of working memory per se may account for these deficits or whether impaired spatial navigation is the main determinant of the poor performance of ATN rats in this task. Given that (1) the deficits are more severe when the two start points are mixed pseudorandomly over training (Loukavenko et al., 2007; Ulrich et al., 2014) and that (2) performance of ATN rats is near chance level even when no delay is introduced between the sample and the test runs (Alcaraz et al., 2014; Warburton et al., 1997), it seems that impaired spatial abilities may be the main determinant of the poor reinforced spatial alternation score exhibited by ATN rats. Studies conducted in a radial-arm maze have indeed demonstrated that ATN lesions produce deficits in both working and reference spatial memory (Mitchell and Dalrymple-Alford, 2005). A drawback of spatial memory tasks is that even under no-delay conditions that partly reduce working memory demands, ATN rats often exhibit extreme deficits precluding the observation of further deterioration with longer delays. Further research may thus still be warranted to determine the relative importance of working memory or spatial processes in the deficits resulting from ATN lesions.

Altogether, these data suggest that the anterior thalamus critically contributes to spatial navigation based on allocentric representations. In fact, specific lesions to the intralaminar (Lopez et al.,

2009; Moreau et al., 2013; Wolff et al., 2008a), midline (Loureiro et al., 2012) or even mediodorsal nuclei (Cain et al., 2006) spare spatial navigation, which further suggests that this ability specifically relies on ATN functions. Of course, the possible additional involvement of other thalamic nuclei cannot be excluded until they are explicitly tested under these conditions. In addition, this important role for the ATN is not dependent of the type of memory processes that are engaged, as working and spatial reference memories are both severely disrupted by thalamic damage, especially when allocentric processing is required. For these reasons, the role of the anterior thalamus has long been confined to the spatial domain. However, more recent experimental data as well as reminiscence of the early work by Gabriel discussed above indicate that this view no longer holds.

2.2. The anterior thalamus and nonspatial memory

The first attempts to investigate a potential involvement of the anterior thalamus in nonspatial memory were rather disappointing. Object exploration is generally not affected by anterior thalamic damage unless the rat is required to remember the location of the object (Warburton and Aggleton, 1999; Wilton et al., 2001), consistent with the deficits of odor-place paired-associate learning which, presumably, can be entirely attributed to the spatial component of the task (Gibb et al., 2006). Similarly, it is not clear whether temporal alternation, as assessed in a straight alley is completely devoid of a spatial component, leaving open the interpretation of the deficit exhibited by mice sustaining anterior thalamic lesions in this task (Beracochea et al., 1989; but see Ward-Robinson et al., 2002 for a discussion). A more explicit assessment of nonspatial abilities has been performed with sensory preconditioning. In this type of procedure, pairings of two neutral stimuli A and X lead to an integrated representation AX, which can be later demonstrated by changing the value of one of the two neutral stimuli (for instance X is paired with an aversive unconditioned stimulus), resulting in a generalized conditioned response to the other stimulus as well. This process is entirely spared by anterior thalamic lesions, which may challenge the view that the anterior thalamus supports pure “relational” processing (Ward-Robinson et al., 2002). In fact, the first unequivocal report of a role of the anterior thalamus in nonspatial learning comes from a temporal order task. In this working memory task, rats are initially required to sample a sequence of six successive odors. During a subsequent concurrent test between two of these odors, the animal has to select the earliest odor in the series to obtain a reward. Posttraining anterior thalamic damage disrupts the ability to identify this earlier odor but not to recognize a “new” odor (i.e. not presented in the series) versus a familiar one (Wolff et al., 2006). The task takes advantage of the natural propensity displayed by rats to manipulate olfactory information which is extremely convenient to achieve nonspatial learning. A more recent confirmation was provided in a study that examined the ability to use contextual information to resolve conflicts in an olfactory list learning task. In context A, rats were presented a series of pairs of odors where only one was associated with a food reward. Once that list was correctly learned, rats were provided a new list in context B. Interference was produced between items on the two lists, as half the odors on List 1 were included on List 2, but with their predictive value reversed (i.e. a previously correct odor is now incorrect). The animals could therefore use the context to resolve interferences. The anterior thalamic lesion prevented the animals to do so, indicating a role for this region in contextual memory (Law and Smith, 2012). Importantly, contextual processing cannot be reduced to pure spatial learning. Contextual information may for instance represent abstract task demands rather than the spatial geometry of the environment (Smith and Mizumori, 2006). Moreover, binding

various attributes of an event is thought to support episodic memory (Mizumori, 2013).

The classic way to apprehend contextual memory has been the use of fear memory conditioning. While this paradigm has been very popular to study hippocampal functions, it has been used in surprisingly few cases to assess anterior thalamic functions. Recent studies have reported that pretraining anterior thalamic lesions slow down the acquisition of contextual but not cued fear conditioning (Dupire et al., 2013; Marchand et al., 2013). Interestingly, even if acquisition appeared to be delayed, contextual fear memory appears to be mostly unaffected at short-term. However, when assessed at longer term (i.e., 3 weeks after conditioning), a major deficit becomes apparent (Marchand et al., 2013).

Altogether, it is clear that although it is far easier to demonstrate an involvement of the anterior thalamus in spatial abilities, possibly due to the inherently relational nature of spatial representations, this region also governs at least some aspects of nonspatial processing, in agreement with clinical data showing that diencephalic amnesia is not restricted to the spatial domain (Carlesimo et al., 2011; Pergola and Suchan, 2013).

2.3. The anterior thalamus in the extended system: general and specific functions

When Aggleton & Brown published their influential review in 1999 with the major proposal that interconnections between the hippocampus and the anterior thalamus may be critical for episodic memory, they referred to this circuit as an “extended hippocampal system.” The major assumption was that the ATN should be considered a functional extension of the hippocampus proper. They did not however consider this region to be a simple output station of the hippocampus as it was clearly stated that the ATN “are contributing something new and not merely passively processing hippocampal outputs” (Aggleton and Brown, 1999). In the coming section, we argue that although there is evidence suggesting that the anterior thalamus contributes to the overall functioning of an extended hippocampal system, there is also support for the view that it plays specific roles that cannot be supported by any other component of the system and in particular, the hippocampus.

2.3.1. The anterior thalamus as part of an extended system

The importance of the functional link between the anterior thalamus and the hippocampus proper has been particularly emphasized by functional disconnection studies, involving either contralateral unilateral lesions of these structures or section of the fibers connecting the two regions. In the water maze task, similar deficits are produced by crossed unilateral lesions of the anterior thalamus and of the hippocampus proper (Henry et al., 2004; Warburton et al., 2001). Interestingly, anterior thalamic but not fornix lesions have been reported to disrupt geometric discrimination, i.e. the ability to use the shape of the maze to find a goal (Aggleton et al., 2009). Anterior thalamic lesions appear to produce more severe deficits and a less efficient search strategy than fornix transection, suggesting that the deficit elicited by thalamic lesions cannot be entirely explained by the loss of hippocampal afferents (Warburton and Aggleton, 1999). Actually, combined crossed lesions of the fornix and the anterior thalamus produce greater impairment when the hippocampal commissure is also severed (Warburton et al., 2000), suggesting that multiple routes between the hippocampus and the anterior thalamus may support spatial navigation. Moreover, deficits are more pronounced when crossed unilateral thalamic–hippocampal lesions preparations are complemented with lesions of the retrosplenial cortex (Dumont et al., 2010), indicating an additional contribution of cortical sites. Thus, spatial navigation appears to rely on a temporo-thalamo-cortical network of interconnected structures corresponding to the Papez

circuit (Papez, 1995), where the anterior thalamus occupies a cardinal position.

Regarding non-spatial abilities, our understanding may be limited by the fact that much fewer data are available and that most if not all of these nonspatial tasks were selected based on the prior demonstration of an involvement of the hippocampus. Therefore, it is not surprising to observe that memory for temporal order or the use of contextual information to resolve conflicts in an olfactory list learning task are equally impaired by hippocampal and thalamic lesions (Butterly et al., 2012; Fortin et al., 2002; Kesner et al., 2002; Law and Smith, 2012; Wolff et al., 2006). Similarly, concerning the role of the hippocampus in contextual fear conditioning, the latest data available indicate that posttraining hippocampal lesions disrupt the recall of remote but not recent contextual fear memories, in a manner strikingly evocative of the effect of ATN lesions (Dupire et al., 2013; Marchand et al., 2013; Zelikowsky et al., 2012). Anterior thalamic damage likely causes wide dysfunctions within an extended system (Nelson and Aggleton, 2014), which may compromise the efficient information flow between the hippocampal formation and the cortex necessary for system-level consolidation of contextual fear memory. Similarly, deep brain stimulation of the anterior thalamus induces a deficit in contextual fear conditioning as well as dysfunctions in the hippocampus and the cortical regions connected with the anterior thalamus (Hamani et al., 2010).

While most of the experimental evidence reviewed here may suggest that ATN lesions often mimic the effect of hippocampal lesions, these results do not exclude a specific role of the ATN in the functioning of the extended circuit.

2.3.2. Specific functions of the anterior thalamus

It is our belief that many of the so-called “hippocampal functions” at least partially result from the functional contribution of other components of the system. In this respect, one of the most convincing pieces of evidence is probably the existence of the head-direction (HD) cells in the anterior thalamus. HD cells are found in an extended network serially organized from the dorsal nucleus of Gudden to the lateral mammillary bodies, the anterior thalamus, the retrosplenial cortex, the postsubiculum and finally the entorhinal cortex (Taube, 2007). Briefly, these cells have the unique feature of coding the angular orientation of the head in the horizontal plane, irrespective of the location of the individual. Since comprehensive analyses of the vast amount of data on the properties of HD cells are available elsewhere (Taube, 2007), especially for HD cells in the anterior thalamus (Jankowski et al., 2013), it is not our purpose to review them here, but only to emphasize that they provide one of the best instances showing a specific role of the anterior thalamus. Indeed, lesions studies have shown that, contrary to the obvious expectation, hippocampal lesions have no impact on the HD cells signal in the anterior thalamus (Golob and Taube, 1997) while the converse manipulation leads to instability of hippocampal place cells fields (Calton et al., 2003). The same effect is produced by reversible inactivation of the laterodorsal nucleus, which also contains HD cells (Mizumori et al., 1994). In fact, only lesions in other areas of the HD system or of the vestibular inputs disrupt the signal from the anterior thalamus (Bassett et al., 2007; Clark et al., 2010, 2012; Stackman and Taube, 1997). Thus, the HD signal in anterior thalamic regions is characterized by a relative independence with respect to hippocampal functions.

The notion that the anterior thalamus contributes specific information, in particular derived from HD cells, leads to the prediction that its lesion should produce more severe deficits than damage to the hippocampal system in tasks that specifically rely on this information. Unfortunately, very few tasks that specifically assess these aspects are available. In one such task aimed at dissociating the use of heading vectors versus the use of extramaze landmarks in the water maze, hippocampal rats, although impaired in their ability

to use extramaze cues to guide navigation, could still efficiently rely on a heading vector strategy to locate a platform relative to a visible beacon (Pearce et al., 1998). In the same task, ATN rats showed a similar profound deficit in the ability to use extramaze cues but in addition, there was no indication that they could efficiently rely on a heading vector strategy (Wilton et al., 2001). In the same vein, when training in the water maze is conducted with a single, constant start point, rats with hippocampal system damage exhibit substantial improvement throughout training to the extent that they hardly differ from Sham rats (Eichenbaum, 2000; Eichenbaum et al., 1990). ATN rats, however, show a severe deficit even during the initial acquisition phase (Wolff et al., 2008b), which suggests that the loss of HD cells deeply affect virtually any spatial strategy. Thus, efficient spatial navigation resulting from the integration of both idiothetic and allocentric cues (Yoganarasimha and Knierim, 2005) may also be facilitated by the dynamics of the HD signal (Valerio and Taube, 2012).

Thus, what we call “hippocampal functions” may result from a number of functions supported by other brain regions from the circuit (Aggleton, 2014; Pergola and Suchan, 2013). In other words, we may be attributing to the hippocampus more than what it really computes because of the functional contributions of other components of the extended circuit. In the case of spatial cognition, the anterior thalamus is not only part of a distributed HD system but also a major target for the main hippocampal outputs. It is therefore ideally located to integrate information computed by hippocampal place cells with directional information, which explains why this region appears to be a major contributor in the neural circuitry supporting self-location (Barry and Burgess, 2014). Furthermore, recent advances concerning the functional role of the mammillary bodies are discussed in this issue (Dillingham et al., 2014), showing that the non-hippocampal inputs to the mammillary bodies (from the tegmental nucleus of Gudden, a midbrain structure) contribute to “hippocampal-dependent” spatial memory (Vann, 2013; Vann et al., 2011). Again, the anterior thalamus would appear as the critical node in the circuit where information from the hippocampus and the midbrain could be integrated. Tracing studies aiming at determining whether the same thalamic neurons receive convergent innervation from both the hippocampus and the midbrain would be warranted to provide a stronger support for this view. As regards non-spatial cognition, it would be of prime interest to determine whether the computational properties of the HD system may also be relevant for the processing of information which is not purely directional.

Importantly, it is indeed well established that abundant reciprocal connections exist between the ATN and the retrosplenial cortex (Shibata, 1993a,b; Shibata and Naito, 2005). There is also extensive experimental evidence that damage to the ATN, beyond the memory impairment, also produces dysfunctions in the retrosplenial cortex (Aggleton, 2008, 2010) suggesting that functional interactions take place between the two regions. The retrosplenial cortex has received attention recently (Aggleton, 2014; Nelson and Aggleton, 2014), as it is generally considered to play a critical role in spatial and contextual memories, which are often considered examples of the same relational system thought to support episodic memory (Eichenbaum et al., 1999; Miller et al., 2014). Such a “relational” function for the retrosplenial cortex has received experimental support (Hindley et al., 2014a,b). Interestingly, the spatial deficits elicited by retrosplenial lesions are generally more subtle than those produced by ATN lesions in rats (Pothuizen et al., 2008, 2010), suggesting that functional interactions between the two regions may become critical when facing conflicting information or more challenging spatial problems. These hypotheses remain to be tested experimentally but assessing the functional role of specific thalamocortical and corticothalamic pathways in different classes of spatial learning appears as a promising perspective.

Finally, the retrosplenial cortex is part of the cingulate region, which has a fundamental implication in a vast array of behaviors including affective processes (Bernhardt and Singer, 2012). Accordingly, it was recently proposed that the ATN may indeed play a role in affective cognition (Dupire et al., 2013). Hence, a major role of the ATN in the extended system would be to integrate hippocampal and midbrain information and to distribute it to specific cortical areas with the additional possibility that this region provides the emotional tonality to information that is particularly relevant. As a result, many of the impairments elicited by anterior thalamic damage may result not only from the loss of the thalamic neurons themselves but also from the secondary system-level disconnection between the medial temporal lobe and the cingulate region, as was initially proposed by Warrington and Weiskrantz (1982). Such disconnection may therefore impede the functioning of a “relational” system (Fig. 1B, left) encompassing the hippocampal formation, the ATN and the retrosplenial cortex.

3. The mediodorsal thalamus and frontal functions

A vast majority of studies of the functions of the mediodorsal nucleus of the thalamus (MD) have been influenced by its position as a major afferent to the prefrontal cortex (PFC) (Kolb et al., 1982). In particular, early electrophysiological studies by Gabriel and collaborators (Gabriel et al., 1996; Sparenborg and Gabriel, 1990) suggested that the MD plays a role in recent (working) memory, which agrees with the specific involvement of the PFC in ensuring the persistence of a memory trace during delayed tasks in primates (Goldman-Rakic, 1995). However, more recent studies have led to a broader view of the role of MD in cognition (Block et al., 2007; Cross et al., 2012; Mitchell and Chakraborty, 2013). In particular, although MD damage has been suggested to cause working memory impairments (Funahashi, 2013; Watanabe and Funahashi, 2012), it would seem inappropriate to restrict the role of MD to purely mnemonic functions.

3.1. The mediodorsal thalamus and spatial memory

In contrast to anterior thalamic nuclei, the evidence linking MD with spatial navigation is far from convincing. Both early and recent studies failed to find spatial memory deficits in MD-lesioned rats when tested in the Morris Water Maze (Dolleman-van der Weel et al., 2009; Kolb et al., 1982). In a number of tasks that tax spatial abilities, where ATN lesions dramatically alter performance, rats sustaining MD lesions do not show consistent deficits (Mitchell and Dalrymple-Alford, 2005), and when deficits are observed, they appear clearly distinct from the effects of damage to the fornix or hippocampus (Hunt and Aggleton, 1998b; M'Harzi et al., 1991; Winocur, 1985, 1990; Young et al., 1996). Noticeably, lesion studies of the specific role of MD have been hindered by the difficulty in avoiding damage to neighboring or more anterior structures. This was particularly evident in early studies involving rather large electrolytic lesions (Peinado-Manzano and Pozo-Garcia, 1991, 1996; Winocur, 1985, 1990), so that negative results obtained under these conditions are even more compelling (Kolb et al., 1982). Several studies acknowledged possible damage to intralaminar nuclei (Burk and Mair, 1998; Zhang et al., 1998) or fibers of passage (Cain et al., 2006). Additional damage to part of the anterior nuclei appears to at least exacerbate MD-related deficits (Bailey and Mair, 2005; Hunt and Aggleton, 1991), and could have produced by itself the deficits observed in spatial working or reference memory (Hunt and Aggleton, 1991; Neave et al., 1993).

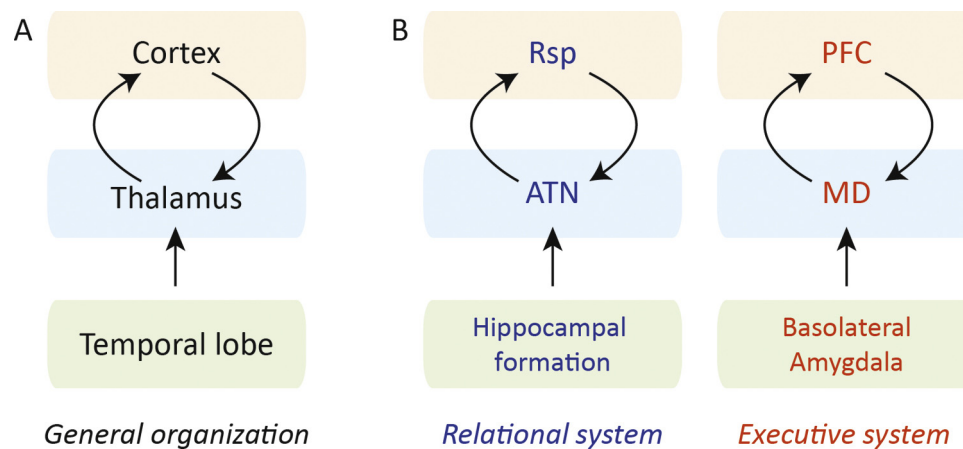


Fig. 1. (A) General temporo-thalamo-cortical organization of the anterior and the mediodorsal thalamus. This schematic view of the thalamic connectivity illustrates the strategic location occupied by the anterior and the mediodorsal thalamus between the temporal lobe and the cortex. Thalamocortical loops may support adaptive behaviors. (B) Specific circuits subserving distinct functions may be similarly organized. The hippocampal formation provides relational information to the ATN and thalamocortical loops at the level of the ATN and the retrosplenial cortex (Rsp) may serve to resolve remaining ambiguities/conflicts (Relational system). The executive system follows the same pattern but temporal lobe information is provided by the basolateral amygdala to the MD and specific thalamocortical loops may then involve several specific prefrontal areas to support decision making (Executive system).

3.2. The mediodorsal thalamus and working memory

Both spatial and non-spatial tests of working memory have been extensively applied to rodents with MD lesions, without providing conclusive evidence for a specific involvement of MD in this function. As mentioned above, several examples of deficits in spatial working memory tasks could have resulted from the effect of unwanted damage to other thalamic nuclei (Burk and Mair, 1998; M'Harzi et al., 1991; Stokes and Best, 1990a,b; Young et al., 1996). In a number of cases, MD lesions had little or no effect in the standard radial-arm maze task (Alexinsky, 2001; M'Harzi et al., 1991) or on spatial reinforced alternation in a cross-maze. Moreover, similar results were obtained using the delayed non-matching to place paradigm in various setups such as the radial maze (Bailey and Mair, 2005; Kolb et al., 1982; Mitchell and Dalrymple-Alford, 2005), the Y-maze (Hunt and Aggleton, 1991), or operant boxes (Neave et al., 1993). An exception was recently reported by a study showing that pharmacogenetic partial inactivation of the MD produced spatial working memory impairment and altered synchrony between the MD and the prefrontal cortex (Parnaudeau et al., 2013) but the reason for this discrepancy with lesion data is presently unclear. More consistent reports indicate minimal and/or only transient deficits in non-spatial alternation tasks (Beracochea et al., 1989; Peinado-Manzano and Pozo-Garcia, 1996; Zhang et al., 1998). Sometimes, initial learning was impaired (Hunt and Aggleton, 1991, 1998a; Mumby et al., 1993), but subsequent working memory performance appeared normal. A particularly problematic finding for the working-memory interpretation was that deficits induced by MD lesions were often delay-independent (Chauveau et al., 2005; Mitchell and Dalrymple-Alford, 2006; Peinado-Manzano and Pozo-Garcia, 1991) or already present at very short delays (Mumby et al., 1993; Winocur, 1985, 1990). Such a pattern indeed suggests that factors other than working memory deficits are involved.

Several authors have interpreted MD-related deficits in working memory tasks as an increased interference from prior trials (Chauveau et al., 2005; Krazem et al., 1995; Stokes and Best, 1990a,b). In spontaneous object recognition tasks, which assess a form of short-term memory in the absence of prior training, MD involvement appears to depend on task demands. Thus, like the medial prefrontal cortex, MD is critical only for particular variants of the task that cannot be solved on the sole basis of familiarity such as object-in-place associative memory and memory for temporal order (Cross et al., 2012; Mitchell and Dalrymple-Alford,

2005). Unlike simple object recognition (Kornecook et al., 1999; M'Harzi et al., 1991), these tasks require focusing on other dimensions such as the relative spatial or temporal position of objects. Similarly, in radial-maze-based tasks, Hunt and Aggleton (1998a) observed deficits only when the task was altered, for instance by rotating the maze or baiting only a subset of the arms. They concluded that lesions of MD affect processes that can interact with task performance, such as relative attention to extramaze cues, activity and exploration levels and the ability to withhold spatial responses. They also pointed out that delayed matching to place is more difficult to learn than delayed non-matching to place because it requires the animal to fight its natural tendency to alternate. Such a requirement for executive control might account for the deficits more commonly observed in the case of delayed matching to place tasks (Bailey and Mair, 2005; Mitchell and Dalrymple-Alford, 2006), as well as for the fact that they often appear delay-independent.

3.3. The mediodorsal thalamus and behavioral flexibility

Several studies have emphasized the similarity of effects of MD damage and MD–mPFC disconnection on executive functions (Block et al., 2007; Cross et al., 2012; Floresco et al., 1999). One such function is behavioral flexibility, which in its simpler form is the ability to learn new patterns of response and to abandon prior or dominant ones. Indeed, recurrent keywords in MD studies such as “rigid patterns of response” (Stokes and Best, 1990a) or “perseveration” (Block et al., 2007; Dolleman-van der Weel et al., 2009; Hunt and Aggleton, 1998b; Means et al., 1975) clearly hint at such a function. Similarly, “transient deficit” (Alexinsky, 2001), “slow learning” (Alexinsky, 2001; Hunt and Aggleton, 1991; Mitchell and Dalrymple-Alford, 2005; Mumby et al., 1993) or “deficits in the early stages of training” (Peinado-Manzano and Pozo-Garcia, 1991; Winocur, 1985, 1990) could also relate to a lack of flexibility, among other factors, especially when subsequent retention is largely normal (Hunt and Aggleton, 1991; Winocur, 1985). More specific evidence comes from studies of reversal (Chudasama et al., 2001; Means et al., 1975; Tigner, 1974) and strategy shifting tasks (Block et al., 2007). For instance, in a visual discrimination task, rats with neurotoxic lesions of the MD were significantly impaired when stimulus-reward contingencies were reversed (Chudasama et al., 2001). In an earlier study, Bussey et al. (1997) had reported a similar pattern of result following lesions of

the medial frontal cortex, which is consistent with the notion of a link between medial thalamic and medial prefrontal functions.

Importantly, MD lesions or inactivations (Block et al., 2007) do not just affect the ability of an animal to abandon a previously learned strategy. Although lesioned rats show an increase in perseverative errors in several types of tasks that require a response shift (Block et al., 2007; Chudasama et al., 2001; Dolleman-van der Weel et al., 2009), they also tend to make non-perseverative errors (Chudasama et al., 2001) or errors of the “never-reinforced” type (Block et al., 2007) that cannot be explained as an inability to inhibit a previously learned strategy. Indeed, behavioral inhibition abilities seem to be preserved. Instead, this type of errors seems to indicate a difficulty in learning a new strategy. Still, the contribution of the MD may only be required when rules change (Dolleman-van der Weel et al., 2009; Hunt and Aggleton, 1998a). Indeed, in a strategy shifting task in a cross maze where the animal must change from a visually guided response to an egocentric response or vice versa, learning of the initial response is unimpaired by MD inactivation (Block et al., 2007).

Studies by Floresco and colleagues using functional disconnections have helped clarify the role of MD–mPFC interactions in behavioral flexibility (Block et al., 2007; Cross et al., 2012; Floresco et al., 1999). In particular, they reported that unilateral inactivation of the MD combined with contralateral inactivation of the prelimbic region of mPFC selectively increased perseverative errors in shifting from an egocentric response strategy to a visual-cue based strategy (Block et al., 2007). By contrast, disconnecting the MD from the ventral striatum (nucleus accumbens) selectively increased “never-reinforced” errors. These authors therefore propose a model whereby projections from the MD to the mPFC signal the need to shift and allow the animal to disengage from a previously relevant strategy, whereas projections from the MD to the nucleus accumbens would allow the exploration of alternative strategies and the elimination of ineffective ones.

3.4. The mediodorsal thalamus and goal-directed behavior

Recently, a role of the MD in flexible, goal-directed behaviors has also emerged. Formally, goal-directed action reflects the integration of two basic processes, namely the knowledge of the causal consequences (or outcome) of an action and the value of the outcome. These processes can be best revealed in instrumental conditioning paradigms through contingency degradation and outcome devaluation procedures respectively (Balleine and Dickinson, 1998; Balleine and O’Doherty, 2010). Corbit et al. (2003) identified a specific role of MD, but not ATN, in goal-directed processes. They showed that rats with pretraining MD lesions reduced their instrumental response in a non-selective manner following outcome devaluation or contingency degradation, although they were able to discriminate outcomes or responses. This impairment in the animals’ ability for goal-directed behavior has recently been confirmed using pharmacogenetic MD inhibition (Parnaudeau et al., 2014). Whereas this role of the MD in purely instrumental situations seems well established, it may also be involved in cases where a Pavlovian component is present (Alcaraz et al., 2014; Pickens, 2008). However, posttraining lesions have been shown to have little effect on goal-directed behaviors (Ostlund and Balleine, 2008). Importantly, this role of the MD is reminiscent of that of the prelimbic part of the medial prefrontal cortex (Corbit et al., 2003; Coutureau et al., 2009; Killcross and Coutureau, 2003; Tran-Tu-Yen et al., 2009), therefore reinforcing the idea that thalamocortical interactions are necessary for the acquisition of goal-directed behaviors. A recent disconnection study indeed demonstrated that contra- but not ipsilateral lesions of the prelimbic cortex and the MD prevented adaptive response to outcome devaluation (Bradfield et al., 2013). Beyond the prelimbic cortex however,

instrumental performance has been shown to also include part of the medial temporal lobe as the basolateral amygdala (BLA, Fig. 1B, right) (Balleine et al., 2003; Corbit and Balleine, 2005) provides specific projections to the MD (McDonald, 1987; Reardon and Mitrofanis, 2000). Pretraining lesions of the BLA render instrumental performance insensitive to manipulations of outcome value or response-outcome contingency (Balleine et al., 2003; Corbit and Balleine, 2005; Coutureau et al., 2009). In non-human primates, a disconnection study has revealed that functional interactions between the MD and BLA are essential for adaptive response selection after reinforcer devaluation (Izquierdo and Murray, 2010). However, the BLA may play a more fundamental role in encoding and maintaining reward representations, since posttraining lesions of this structure impair performance on most tests of goal-directed behavior (Ostlund and Balleine, 2008). In contrast, the involvement of the MD seems to more specifically concern the encoding phase.

3.5. The mediodorsal thalamus: attention to learn

When its various contributions are considered, a general role for the MD emerges, quite distinct from that of anterior thalamic nuclei. MD appears involved in the early stages of acquisition of complex tasks (Hunt and Aggleton, 1991) and in learning new response strategies, particularly when they require to differentiate complex stimuli. MD could therefore contribute to prefrontal cortical functions during task acquisition by focusing attention onto particular sensory dimensions that are relevant to the current task. Such an “attention to learn” function could not only explain the involvement of MD in a wide range of tasks but also the observation that many of the observed deficits associated with its lesion appear mild and transient. It is likely that once critical stimulus dimensions have been identified, they acquire a long-lasting salience in relation to the task at hand. During strategy shifting tasks, MD inactivation should impair the identification of relevant dimensions that characterize a novel rule. This is consistent with the observation that learning the shift is slower, associated with non-perseverative errors indicating failure to learn the novel rule as well as perseverative errors indicating the dominance of previously learned patterns of response.

MD entertains privileged links with different divisions of the prefrontal cortex, including the OFC and the mPFC (Gabbott et al., 2005; Groenewegen, 1988). Thus, its involvement in goal-directed tasks may concern attention to specific sensory properties of rewards, in relation either to predictive stimuli, as processed by the OFC or to actions, as processed by the mPFC (Ostlund and Balleine, 2008). Identifying relevant stimulus dimensions probably involves bidirectional exchanges between thalamic and cortical regions. One possible mechanism involved has been highlighted by Floresco and Grace (2003), who showed how inputs from the MD could gate hippocampal inputs to the mPFC. MD processing could therefore contribute to unify or differentiate various situations based on specific features and task demands.

4. Conclusion

The data reviewed here provide a clear demonstration of the functional heterogeneity of the thalamus and indicate that the anterior and the mediodorsal thalamus support specific and distinct functions, in sharp contrast with the conflicting clinical reports regarding the physiopathology of diencephalic amnesia. The role of each thalamic region can be better apprehended by considering its specific functional connectivity. As proposed earlier, the anterior thalamus appears to support hippocampal functions (Aggleton, 2012; Aggleton and Brown, 1999, 2006; Carlesimo et al., 2011), or, more properly, to provide a major contribution to an

extended system encompassing not only the hippocampus proper but also the diencephalon and the cingulate region. This extended system corresponds to the Papez circuit, possibly enriched by midbrain inputs from the nucleus of Gudden (Dillingham et al., 2014; Vann, 2009, 2013). There is no doubt that the anterior thalamus occupies a cardinal position within this system, at the crossroad between direct and indirect hippocampal and midbrain inputs, consistent with a fundamental role in spatial cognition. The latest experimental data (Dupire et al., 2013; Law and Smith, 2012; Marchand et al., 2013; Wolff et al., 2006) as well as the study of clinical cases (Carlesimo et al., 2011; Gold and Squire, 2006; Harding et al., 2000; Pergola and Suchan, 2013) have confirmed however, that beyond this specific role in spatial learning, this region may play a broader role in cognition. We suggest that the anterior thalamic region integrates information from the hippocampus and the midbrain for subsequent dialog with the cingulate region. Due to its privileged position, it may also provide some degree of affective computation, thus facilitating memorization of particularly relevant information (Dupire et al., 2013).

Regarding the functions of the mediodorsal thalamus, the present review provides support for a conceptual shift from an essentially mnemonic, to a more “executive” role. In particular, the traditional view that the MD may specifically support working memory (Funahashi, 2013; Watanabe and Funahashi, 2012) is not supported by studies involving specific MD lesions. We cannot exclude that the core functions critically supported by the MD may participate in some working memory tasks. In fact, we suggest that a major role of the MD may be to focus attention on the relevant dimensions of the task. This view is consistent with the idea that the thalamus does not passively relay information to the cortex but instead that it provides a behaviorally relevant, dynamic control over the nature of information relayed (Sherman, 2005). Again, the specific functional connectivity of this region helps to define the type of information that it may compute. In particular, if this region is best characterized by overwhelming projections to the whole extent of the prefrontal cortex, it is also connected with the basolateral amygdala. The ventroamygdalofugal pathway (Graff-Radford et al., 1990) may therefore be suited to provide incentive processing based on the relevance of the encountered stimuli, in addition to its suggested role in supporting simple, “familiar”, recognition (Aggleton and Brown, 1999; Carlesimo et al., 2011). According to this view, the basolateral amygdala may encode emotional events with reference to their particular sensory-specific features (Balleine and Killcross, 2006) and the mediodorsal thalamus may provide the appropriate focus on these relevant features.

As a whole, the limbic thalamus therefore appears to be a heterogeneous structure supporting dissociable functions. We purposely focussed in this review on the role of the anterior and the mediodorsal groups as those are the nuclei that received most experimental attention thus far, but it is clear that several other thalamic areas contribute to this functional heterogeneity, including the ventral midline nuclei (Cassel et al., 2013), the intralaminar group (Lopez et al., 2009) or the parafascicular nucleus (Bradfield et al., 2013), among others. Experimental studies conducted in rodents have provided a clear functional dissociation between the anterior and the mediodorsal thalamus which is highly instructive with respect to our current understanding of diencephalic amnesia. We hope that it may provide a new perspective on the clinical impairments observed in thalamic patients. Ironically, while the specific functions of the anterior and the mediodorsal thalamus show little, if any, overlap, a common neuropathology might underlie the deficits in thalamic patients. Indeed, lesions of the anterior thalamus may disconnect the medial temporal lobe from the cingulate region. Similarly, lesions of the mediodorsal thalamus may result in functional disconnection of the basolateral amygdala and the prefrontal cortex because the relay at the thalamic level is lacking. Thus, the

general consequence of thalamic damage would be to produce various degrees of system-level disconnection between the medial temporal lobe and the cortex, resulting in impairments of variable nature and severity (Fig. 1). In this respect, the pioneer theoretical proposal from Warrington and Weiskrantz (1982) may have been remarkably accurate.

References

- Aggleton, J.P., 2008. EPS Mid-Career Award 2006. Understanding anterograde amnesia: disconnections and hidden lesions. *Q. J. Exp. Psychol. (Hove)* 61, 1441–1471.
- Aggleton, J.P., 2010. Understanding retrosplenial amnesia: insights from animal studies. *Neuropsychologia* 48, 2328–2338.
- Aggleton, J.P., 2012. Multiple anatomical systems embedded within the primate medial temporal lobe: implications for hippocampal function. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 36, 1579–1596.
- Aggleton, J.P., 2014. Looking beyond the hippocampus: old and new neurological targets for understanding memory disorders. *Proc. Biol. Sci. R. Soc.* 281.
- Aggleton, J.P., Amin, E., Jenkins, T.A., Pearce, J.M., Robison, J., 2011. Lesions in the anterior thalamic nuclei of rats do not disrupt acquisition of stimulus sequence learning. *Q. J. Exp. Psychol. (Hove)* 64, 65–73.
- Aggleton, J.P., Brown, M.W., 1999. Episodic memory, amnesia, and the hippocampal–anterior thalamic axis. *Behav. Brain Sci.* 22, 425–444, discussion 444–489.
- Aggleton, J.P., Brown, M.W., 2006. Interleaving brain systems for episodic and recognition memory. *Trends Cogn. Sci.* 10, 455–463.
- Aggleton, J.P., Hunt, P.R., Nagle, S., Neave, N., 1996. The effects of selective lesions within the anterior thalamic nuclei on spatial memory in the rat. *Behav. Brain Res.* 81, 189–198.
- Aggleton, J.P., Poirier, G.L., Aggleton, H.S., Vann, S.D., Pearce, J.M., 2009. Lesions of the fornix and anterior thalamic nuclei dissociate different aspects of hippocampal-dependent spatial learning: implications for the neural basis of scene learning. *Behav. Neurosci.* 123, 504–519.
- Alcaraz, F., Naneix, F., Desfosses, E., Marchand, A.R., Wolff, M., Coutureau, E., 2014. Dissociable effects of anterior and mediodorsal thalamic lesions on spatial goal-directed behavior. *Brain Struct. Funct.*, <http://dx.doi.org/10.1007/s00429-014-0893-7>.
- Alexinsky, T., 2001. Differential effect of thalamic and cortical lesions on memory systems in the rat. *Behav. Brain Res.* 122, 175–191.
- Anness, J., Schenker-Ahmed, N.M., Bartsch, H., Maechler, P., Sheh, C., Thomas, N., Kayano, J., Ghatan, A., Bresler, N., Frosch, M.P., Klaming, R., Corkin, S., 2014. Post-mortem examination of patient H.M.'s brain based on histological sectioning and digital 3D reconstruction. *Nat. Commun.* 5, 3122.
- Bailey, K.R., Mair, R.G., 2005. Lesions of specific and nonspecific thalamic nuclei affect prefrontal cortex-dependent aspects of spatial working memory. *Behav. Neurosci.* 119, 410–419.
- Balleine, B.W., Dickinson, A., 1998. Goal-directed instrumental action: contingency and incentive learning and their cortical substrates. *Neuropharmacology* 37, 407–419.
- Balleine, B.W., Killcross, A.S., Dickinson, A., 2003. The effect of lesions of the basolateral amygdala on instrumental conditioning. *J. Neurosci.* 23, 666–675.
- Balleine, B.W., Killcross, S., 2006. Parallel incentive processing: an integrated view of amygdala function. *Trends Neurosci.* 29, 272–279.
- Balleine, B.W., O'Doherty, J.P., 2010. Human and rodent homologies in action control: corticostriatal determinants of goal-directed and habitual action. *Neuropsychopharmacology* 35, 48–69.
- Barry, C., Burgess, N., 2014. Neural mechanisms of self-location. *Curr. Biol.* 24, R330–R339.
- Bassett, J.P., Tullman, M.L., Taube, J.S., 2007. Lesions of the tegmentomammillary circuit in the head direction system disrupt the head direction signal in the anterior thalamus. *J. Neurosci.* 27, 7564–7577.
- Beracochea, D.J., Jaffard, R., Jarrard, L.E., 1989. Effects of anterior or dorsomedial thalamic ibotenic lesions on learning and memory in rats. *Behav. Neural Biol.* 51, 364–376.
- Bernhardt, B.C., Singer, T., 2012. The neural basis of empathy. *Annu. Rev. Neurosci.* 35, 1–23.
- Bird, C.M., Burgess, N., 2008. The hippocampus and memory: insights from spatial processing. *Nat. Rev. Neurosci.* 9, 182–194.
- Block, A.E., Dhanji, H., Thompson-Tardif, S.F., Floresco, S.B., 2007. Thalamic-prefrontal cortical-ventral striatal circuitry mediates dissociable components of strategy set shifting. *Cereb. Cortex* 17, 1625–1636.
- Bradfield, L.A., Hart, G., Balleine, B.W., 2013. The role of the anterior, mediodorsal, and parafascicular thalamus in instrumental conditioning. *Front. Syst. Neurosci.* 7, 51.
- Burk, J.A., Mair, R.G., 1998. Thalamic amnesia reconsidered: excitotoxic lesions of the intralaminar nuclei, but not the mediodorsal nucleus, disrupt place delayed matching-to-sample performance in rats (*Rattus norvegicus*). *Behav. Neurosci.* 112, 54–67.
- Bussey, T.J., Muir, J.L., Everitt, B.J., Robbins, T.W., 1997. Triple dissociation of anterior cingulate, posterior cingulate, and medial frontal cortices on visual discrimination tasks using a touchscreen testing procedure for the rat. *Behav. Neurosci.* 111, 920–936.

- Butterly, D.A., Petroccione, M.A., Smith, D.M., 2012. Hippocampal context processing is critical for interference free recall of odor memories in rats. *Hippocampus* 22, 906–913.
- Byatt, G., Dalrymple-Alford, J.C., 1996. Both anteromedial and anteroventral thalamic lesions impair radial-maze learning in rats. *Behav. Neurosci.* 110, 1335–1348.
- Cain, D.P., Boon, F., Corcoran, M.E., 2006. Thalamic and hippocampal mechanisms in spatial navigation: a dissociation between brain mechanisms for learning how versus learning where to navigate. *Behav. Brain Res.* 170, 241–256.
- Calton, J.L., Stackman, R.W., Goodridge, J.P., Archey, W.B., Dudchenko, P.A., Taube, J.S., 2003. Hippocampal place cell instability after lesions of the head direction cell network. *J. Neurosci.* 23, 9719–9731.
- Carlesimo, G.A., Lombardi, M.G., Caltagirone, C., 2011. Vascular thalamic amnesia: a reappraisal. *Neuropsychologia* 49, 777–789.
- Cassel, J.C., Pereira de Vasconcelos, A., Loureiro, M., Cholvin, T., Dalrymple-Alford, J.C., Vertes, R.P., 2013. The reuniens and rhomboid nuclei: neuroanatomy, electrophysiological characteristics and behavioral implications. *Prog. Neurobiol.* 111, 34–52.
- Caulo, M., Van Hecke, J., Toma, L., Ferretti, A., Tartaro, A., Colosimo, C., Romani, G.L., Uncini, A., 2005. Functional MRI study of diencephalic amnesia in Wernicke-Korsakoff syndrome. *Brain* 128, 1584–1594.
- Chauveau, F., Celerier, A., Ognard, R., Pierard, C., Beracochea, D., 2005. Effects of ibotenic acid lesions of the mediodorsal thalamus on memory: relationship with emotional processes in mice. *Behav. Brain Res.* 156, 215–223.
- Chudasama, Y., Bussey, T.J., Muir, J.L., 2001. Effects of selective thalamic and prelimbic cortex lesions on two types of visual discrimination and reversal learning. *Eur. J. Neurosci.* 14, 1009–1020.
- Clark, B.J., Bassett, J.P., Wang, S.S., Taube, J.S., 2010. Impaired head direction cell representation in the anterodorsal thalamus after lesions of the retrosplenial cortex. *J. Neurosci.* 30, 5289–5302.
- Clark, B.J., Brown, J.E., Taube, J.S., 2012. Head direction cell activity in the anterodorsal thalamus requires intact supragenual nuclei. *J. Neurophysiol.* 108, 2767–2784.
- Corbit, L.H., Balleine, B.W., 2005. Double dissociation of basolateral and central amygdala lesions on the general and outcome-specific forms of pavlovian-instrumental transfer. *J. Neurosci.* 25, 962–970.
- Corbit, L.H., Muir, J.L., Balleine, B.W., 2003. Lesions of mediodorsal thalamus and anterior thalamic nuclei produce dissociable effects on instrumental conditioning in rats. *Eur. J. Neurosci.* 18, 1286–1294.
- Coutureau, E., Marchand, A.R., Di Scala, G., 2009. Goal-directed responding is sensitive to lesions to the prelimbic cortex or basolateral nucleus of the amygdala but not to their disconnection. *Behav. Neurosci.* 123, 443–448.
- Cross, L., Brown, M.W., Aggleton, J.P., Warburton, E.C., 2012. The medial dorsal thalamic nucleus and the medial prefrontal cortex of the rat function together to support associative recognition and recency but not item recognition. *Learn. Mem.* 20, 41–50.
- Delay, J., Brion, S., 1969. *Le Syndrome de Korsakoff*. Masson, Paris.
- Dillingham, C.M., Frizzati, A., Nelson, A.J.D., Vann, S.D., 2014. How do mammillary body inputs contribute to anterior thalamic function? *Neurosci. Biobehav. Rev.*
- Dolleman-van der Weel, M.J., Morris, R.G., Witter, M.P., 2009. Neurotoxic lesions of the thalamic reuniens or mediodorsal nucleus in rats affect non-mnemonic aspects of watermaze learning. *Brain Struct. Funct.* 213, 329–342.
- Dumont, J.R., Petrides, M., Sziklas, V., 2010. Fornix and retrosplenial contribution to a hippocampo-thalamic circuit underlying conditional learning. *Behav. Brain Res.* 209, 13–20.
- Dupire, A., Kant, P., Mons, N., Marchand, A.R., Coutureau, E., Dalrymple-Alford, J., Wolff, M., 2013. A role for anterior thalamic nuclei in affective cognition: interaction with environmental conditions. *Hippocampus* 23, 392–404.
- Eichenbaum, H., 2000. A cortical-hippocampal system for declarative memory. *Nat. Rev. Neurosci.* 1, 41–50.
- Eichenbaum, H., Dudchenko, P., Wood, E., Shapiro, M., Tanila, H., 1999. The hippocampus, memory, and place cells: is it spatial memory or a memory space? *Neuron* 23, 209–226.
- Eichenbaum, H., Stewart, C., Morris, R.G., 1990. Hippocampal representation in place learning. *J. Neurosci.* 10, 3531–3542.
- Floresco, S.B., Braakmsma, D.N., Phillips, A.G., 1999. Thalamic-cortical-striatal circuitry subserves working memory during delayed responding on a radial arm maze. *J. Neurosci.* 19, 11061–11071.
- Floresco, S.B., Grace, A.A., 2003. Gating of hippocampal-evoked activity in prefrontal cortical neurons by inputs from the mediodorsal thalamus and ventral tegmental area. *J. Neurosci.* 23, 3930–3943.
- Fortin, N.J., Agster, K.L., Eichenbaum, H.B., 2002. Critical role of the hippocampus in memory for sequences of events. *Nat. Neurosci.* 5, 458–462.
- Freeman Jr., J.H., Cuppernell, C., Flannery, K., Gabriel, M., 1996a. Context-specific multi-site cingulate cortical, limbic thalamic, and hippocampal neuronal activity during concurrent discriminative approach and avoidance training in rabbits. *J. Neurosci.* 16, 1538–1549.
- Freeman Jr., J.H., Cuppernell, C., Flannery, K., Gabriel, M., 1996b. Limbic thalamic, cingulate cortical and hippocampal neuronal correlates of discriminative approach learning in rabbits. *Behav. Brain Res.* 80, 123–136.
- Funahashi, S., 2013. Thalamic mediodorsal nucleus and its participation in spatial working memory processes: comparison with the prefrontal cortex. *Front. Syst. Neurosci.* 7, 36.
- Gabbott, P.L., Warner, T.A., Jays, P.R., Salway, P., Busby, S.J., 2005. Prefrontal cortex in the rat: projections to subcortical autonomic, motor, and limbic centers. *J. Comp. Neurol.* 492, 145–177.
- Gabriel, M., Kang, E., Poremba, A., Kubota, Y., Allen, M.T., Miller, D.P., Steinmetz, J.E., 1996. Neural substrates of discriminative avoidance learning and classical eyeblink conditioning in rabbits: a double dissociation. *Behav. Brain Res.* 82, 23–30.
- Gabriel, M., Lambert, R.W., Foster, K., Orona, E., Sparenborg, S., Maiorca, R.R., 1983. Anterior thalamic lesions and neuronal activity in the cingulate and retrosplenial cortices during discriminative avoidance behavior in rabbits. *Behav. Neurosci.* 97, 675–696.
- Gabriel, M., Miller, J.D., Saltwick, S.E., 1977. Unit activity in cingulate cortex and anteroventral thalamus of the rabbit during differential conditioning and reversal. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 91, 423–433.
- Gabriel, M., Orona, E., Foster, K., Lambert, R.W., 1980. Cingulate cortical and anterior thalamic neuronal correlates of reversal learning in rabbits. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 94, 1087–1100.
- Gabriel, M., Sparenborg, S., 1986. Anterior thalamic discriminative neuronal responses enhanced during learning in rabbits with subicular and cingulate cortical lesions. *Brain Res.* 384, 195–198.
- Gabriel, M., Sparenborg, S.P., Stolar, N., 1987. Hippocampal control of cingulate cortical and anterior thalamic information processing during learning in rabbits. *Exp. Brain Res.* 67, 131–152.
- Gibb, S.J., Wolff, M., Dalrymple-Alford, J.C., 2006. Odour-place paired-associate learning and limbic thalamus: comparison of anterior, lateral and medial thalamic lesions. *Behav. Brain Res.* 172, 155–168.
- Gold, J.J., Squire, L.R., 2006. The anatomy of amnesia: neurohistological analysis of three new cases. *Learn. Mem.* 13, 699–710.
- Goldman-Rakic, P.S., 1995. Anatomical and functional circuits in prefrontal cortex of nonhuman primates. Relevance to epilepsy. *Adv. Neurol.* 66, 51–63, discussion 63–65.
- Golob, E.J., Taube, J.S., 1997. Head direction cells and episodic spatial information in rats without a hippocampus. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 94, 7645–7650.
- Graff-Radford, N.R., Tranel, D., Van Hoesen, G.W., Brandt, J.P., 1990. Diencephalic amnesia. *Brain* 113 (Pt. 1), 1–25.
- Greeneweg, H.J., 1988. Organization of the afferent connections of the mediodorsal thalamic nucleus in the rat, related to the mediodorsal-prefrontal topography. *Neuroscience* 24, 379–431.
- Hamani, C., Dubiela, F.P., Soares, J.C., Shin, D., Bittencourt, S., Covolan, L., Carlen, P.L., Laxton, A.W., Hodaie, M., Stone, S.S., Ha, Y., Hutchison, W.D., Lozano, A.M., Mello, L.E., Oliveira, M.G., 2010. Anterior thalamus deep brain stimulation at high current impairs memory in rats. *Exp. Neurol.* 225, 154–162.
- Hampstead, B.M., Koffler, S.P., 2009. Thalamic contributions to anterograde, retrograde, and implicit memory: a case study. *Clin. Neuropsychol.* 23, 1232–1249.
- Harding, A., Halliday, G., Caine, D., Kril, J., 2000. Degeneration of anterior thalamic nuclei differentiates alcoholics with amnesia. *Brain* 123 (Pt. 1), 141–154.
- Henry, J., Petrides, M., St-Laurent, M., Sziklas, V., 2004. Spatial conditional associative learning: effects of thalamo-hippocampal disconnection in rats. *Neuroreport* 15, 2427–2431.
- Hindley, E.L., Nelson, A.J., Aggleton, J.P., Vann, S.D., 2014a. Dysgranular retrosplenial cortex lesions in rats disrupt cross-modal object recognition. *Learn. Mem.* 21, 171–179.
- Hindley, E.L., Nelson, A.J., Aggleton, J.P., Vann, S.D., 2014b. The rat retrosplenial cortex is required when visual cues are used flexibly to determine location. *Behav. Brain Res.* 263, 98–107.
- Hunt, P.R., Aggleton, J.P., 1991. Medial dorsal thalamic lesions and working memory in the rat. *Behav. Neural Biol.* 55, 227–246.
- Hunt, P.R., Aggleton, J.P., 1998a. An examination of the spatial working memory deficit following neurotoxic medial dorsal thalamic lesions in rats. *Behav. Brain Res.* 97, 129–141.
- Hunt, P.R., Aggleton, J.P., 1998b. Neurotoxic lesions of the dorsomedial thalamus impair the acquisition but not the performance of delayed matching to place by rats: a deficit in shifting response rules. *J. Neurosci.* 18, 10045–10052.
- Izquierdo, A., Murray, E.A., 2010. Functional interaction of medial mediodorsal thalamic nucleus but not nucleus accumbens with amygdala and orbital prefrontal cortex is essential for adaptive response selection after reinforcer devaluation. *J. Neurosci.* 30, 661–669.
- Jankowski, M.M., Ronqvist, K.C., Tsanov, M., Vann, S.D., Wright, N.F., Erichsen, J.T., Aggleton, J.P., O'Mara, S.M., 2013. The anterior thalamus provides a subcortical circuit supporting memory and spatial navigation. *Front. Syst. Neurosci.* 7, 45.
- Kesner, R.P., Gilbert, P.E., Barua, L.A., 2002. The role of the hippocampus in memory for the temporal order of a sequence of odors. *Behav. Neurosci.* 116, 286–290.
- Killcross, S., Coutureau, E., 2003. Coordination of actions and habits in the medial prefrontal cortex of rats. *Cereb. Cortex* 13, 400–408.
- Kolb, B., Pittman, K., Sutherland, R.J., Whishaw, I.Q., 1982. Dissociation of the contributions of the prefrontal cortex and dorsomedial thalamic nucleus to spatially guided behavior in the rat. *Behav. Brain Res.* 6, 365–378.
- Kopelman, M.D., Thomson, A.D., Guerrini, I., Marshall, E.J., 2009. The Korsakoff syndrome: clinical aspects, psychology and treatment. *Alcohol Alcohol.* 44, 148–154.
- Kornecook, T.J., Anzarut, A., Pinel, J.P., 1999. Rhinal cortex, but not medial thalamic, lesions cause retrograde amnesia for objects in rats. *Neuroreport* 10, 2853–2858.
- Krazem, A., Beracochea, D., Jaffard, R., 1995. Effects of mammillary bodies and mediodorsal thalamic lesions on the acquisition and retention of a learning set in mice: paradoxical effect of the inter-session interval. *Behav. Brain Res.* 67, 51–58.
- Kril, J.J., Harper, C.G., 2012. Neuroanatomy and neuropathology associated with Korsakoff's syndrome. *Neuropsychol. Rev.* 22, 72–80.

- Law, L.M., Smith, D.M., 2012. The anterior thalamus is critical for overcoming interference in a context-dependent odor discrimination task. *Behav. Neurosci.* 126, 710–719.
- Lopez, J., Wolff, M., Lecourtier, L., Cosquer, B., Bontempi, B., Dalrymple-Alford, J., Cassel, J.C., 2009. The intralaminar thalamic nuclei contribute to remote spatial memory. *J. Neurosci.* 29, 3302–3306.
- Loukavenko, E.A., Ottley, M.C., Moran, J.P., Wolff, M., Dalrymple-Alford, J.C., 2007. Towards therapy to relieve memory impairment after anterior thalamic lesions: improved spatial working memory after immediate and delayed postoperative enrichment. *Eur. J. Neurosci.* 26, 3267–3276.
- Loureiro, M., Cholvin, T., Lopez, J., Merienne, N., Latreche, A., Cosquer, B., Geiger, K., Kelche, C., Cassel, J.C., Pereira de Vasconcelos, A., 2012. The ventral midline thalamus (reuniens and rhomboid nuclei) contributes to the persistence of spatial memory in rats. *J. Neurosci.* 32, 9947–9959.
- M'Harzi, M., Jarrard, L.E., Willig, F., Palacios, A., Delacour, J., 1991. Selective fimbria and thalamic lesions differentially impair forms of working memory in rats. *Behav. Neural Biol.* 56, 221–239.
- Marchand, A., Faugere, A., Coutureau, E., Wolff, M., 2013. A role for anterior thalamic nuclei in contextual fear memory. *Brain Struct. Funct.* 219, 1575–1586.
- McDonald, A.J., 1987. Organization of amygdaloid projections to the mediadorsal thalamus and prefrontal cortex: a fluorescence retrograde transport study in the rat. *J. Comp. Neurol.* 262, 46–58.
- Means, L.W., Hershey, A.E., Waterhouse, G.J., Lane, C.J., 1975. Effects of dorsomedial thalamic lesions on spatial discrimination reversal in the rat. *Physiol. Behav.* 14, 725–729.
- Mendez-Lopez, M., Arias, J.L., Bontempi, B., Wolff, M., 2013. Reduced cytochrome oxidase activity in the retrosplenial cortex after lesions to the anterior thalamic nuclei. *Behav. Brain Res.* 250C, 264–273.
- Miller, A.M., Vedder, L.C., Law, L.M., Smith, D.M., 2014. Cues, context, and long-term memory: the role of the retrosplenial cortex in spatial cognition. *Front. Hum. Neurosci.* 8, 586.
- Mitchell, A.S., Chakraborty, S., 2013. What does the mediadorsal thalamus do? *Front. Syst. Neurosci.* 7, 37.
- Mitchell, A.S., Dalrymple-Alford, J.C., 2005. Dissociable memory effects after medial thalamus lesions in the rat. *Eur. J. Neurosci.* 22, 973–985.
- Mitchell, A.S., Dalrymple-Alford, J.C., 2006. Lateral and anterior thalamic lesions impair independent memory systems. *Learn. Mem.* 13, 388–396.
- Mizumori, S.J., 2013. Context prediction analysis and episodic memory. *Front. Behav. Neurosci.* 7, 132.
- Mizumori, S.J., Miya, D.Y., Ward, K.E., 1994. Reversible inactivation of the lateral dorsal thalamus disrupts hippocampal place representation and impairs spatial learning. *Brain Res.* 644, 168–174.
- Moran, J.P., Dalrymple-Alford, J.C., 2003. Perirhinal cortex and anterior thalamic lesions: comparative effects on learning and memory. *Behav. Neurosci.* 117, 1326–1341.
- Moreau, P.H., Tsenkina, Y., Lecourtier, L., Lopez, J., Cosquer, B., Wolff, M., Dalrymple-Alford, J., Cassel, J.C., 2013. Lesions of the anterior thalamic nuclei and intralaminar thalamic nuclei: place and visual discrimination learning in the water maze. *Brain Struct. Funct.* 218, 657–667.
- Mumby, D.G., Pinel, P.J.P., Dastur, F.N., 1993. Mediodorsal thalamic lesions and object recognition in rats. *Psychobiology* 21, 27–36.
- Neave, N., Sahgal, A., Aggleton, J.P., 1993. Lack of effect of dorsomedial thalamic lesions on automated tests of spatial memory in the rat. *Behav. Brain Res.* 55, 39–49.
- Nelson, A.J.D., Aggleton, J.P., 2014. Why do lesions in the rodent anterior thalamic nuclei cause such severe spatial deficits? *Neurosci. Biobehav. Rev.* (this issue).
- Orona, E., Foster, K., Lambert, R.W., Gabriel, M., 1982. Cingulate cortical and anterior thalamic neuronal correlates of the overtraining reversal effect in rabbits. *Behav. Brain Res.* 4, 133–154.
- Ostlund, S.B., Balleine, B.W., 2008. Differential involvement of the basolateral amygdala and mediadorsal thalamus in instrumental action selection. *J. Neurosci.* 28, 4398–4405.
- Papez, J.W., 1995. A proposed mechanism of emotion. 1937. *J. Neuropsychiatr. Clin. Neurosci.* 7, 103–112.
- Parnaudeau, S., O'Neill, P.K., Bolkan, S.S., Ward, R.D., Abbas, A.I., Roth, B.L., Balsam, P.D., Gordon, J.A., Kellendonk, C., 2013. Inhibition of mediadorsal thalamus disrupts thalamofrontal connectivity and cognition. *Neuron* 77, 1151–1162.
- Parnaudeau, S., Taylor, K., Bolkan, S.S., Ward, R.D., Balsam, P.D., Kellendonk, C., 2014. Mediodorsal thalamus hypofunction impairs flexible goal-directed behavior. *Biol. Psychiatry*.
- Pearce, J.M., Roberts, A.D., Good, M., 1998. Hippocampal lesions disrupt navigation based on cognitive maps but not heading vectors. *Nature* 396, 75–77.
- Peinado-Manzano, M.A., Pozo-Garcia, R., 1991. The role of different nuclei of the thalamus in processing episodic information. *Behav. Brain Res.* 45, 17–27.
- Peinado-Manzano, M.A., Pozo-Garcia, R., 1996. Retrograde amnesia in rats with dorsomedial thalamic damage. *Behav. Brain Res.* 80, 177–184.
- Pergola, G., Suchan, B., 2013. Associative learning beyond the medial temporal lobe: many actors on the memory stage. *Front. Behav. Neurosci.* 7, 162.
- Pickens, C.L., 2008. A limited role for mediadorsal thalamus in devaluation tasks. *Behav. Neurosci.* 122, 659–676.
- Pothuizen, H.H., Aggleton, J.P., Vann, S.D., 2008. Do rats with retrosplenial cortex lesions lack direction? *Eur. J. Neurosci.* 28, 2486–2498.
- Pothuizen, H.H., Davies, M., Aggleton, J.P., Vann, S.D., 2010. Effects of selective granular retrosplenial cortex lesions on spatial working memory in rats. *Behav. Brain Res.* 208, 566–575.
- Reardon, F., Mitrofanis, J., 2000. Organisation of the amygdalo-thalamic pathways in rats. *Anat. Embryol. (Berl.)* 201, 75–84.
- Scoville, W.B., Milner, B., 2000. Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. 1957. *J. Neuropsychiatr. Clin. Neurosci.* 12, 103–113.
- Sherman, S.M., 2005. Thalamic relays and cortical functioning. *Prog. Brain Res.* 149, 107–126.
- Shibata, H., 1993a. Direct projections from the anterior thalamic nuclei to the retro-hippocampal region in the rat. *J. Comp. Neurol.* 337, 431–445.
- Shibata, H., 1993b. Efferent projections from the anterior thalamic nuclei to the cingulate cortex in the rat. *J. Comp. Neurol.* 330, 533–542.
- Shibata, H., Naito, J., 2005. Organization of anterior cingulate and frontal cortical projections to the anterior and laterodorsal thalamic nuclei in the rat. *Brain Res.* 1059, 93–103.
- Smith, D.M., Mizumori, S.J., 2006. Hippocampal place cells, context, and episodic memory. *Hippocampus* 16, 716–729.
- Sparenborg, S., Gabriel, M., 1990. Neuronal encoding of conditional stimulus duration in the cingulate cortex and the limbic thalamus of rabbits. *Behav. Neurosci.* 104, 919–933.
- Stackman, R.W., Taube, J.S., 1997. Firing properties of head direction cells in the rat anterior thalamic nucleus: dependence on vestibular input. *J. Neurosci.* 17, 4349–4358.
- Stokes, K.A., Best, P.J., 1990a. Mediodorsal thalamic lesions impair “reference” and “working” memory in rats. *Physiol. Behav.* 47, 471–476.
- Stokes, K.A., Best, P.J., 1990b. Response biases do not underlie the radial maze deficit in rats with mediodorsal thalamus lesions. *Behav. Neural Biol.* 53, 334–345.
- Sutherland, R.J., Rodriguez, A.J., 1989. The role of the fornix/fimbria and some related subcortical structures in place learning and memory. *Behav. Brain Res.* 32, 265–277.
- Taube, J.S., 1995. Head direction cells recorded in the anterior thalamic nuclei of freely moving rats. *J. Neurosci.* 15, 70–86.
- Taube, J.S., 2007. The head direction signal: origins and sensory–motor integration. *Annu. Rev. Neurosci.* 30, 181–207.
- Tigner, J.C., 1974. The effects of dorsomedial thalamic lesions on learning, reversal, and alternation behavior in the rat. *Physiol. Behav.* 12, 13–17.
- Tran-Tu-Yen, D.A., Marchand, A.R., Pape, J.R., Di Scala, G., Coutureau, E., 2009. Transient role of the rat prelimbic cortex in goal-directed behaviour. *Eur. J. Neurosci.* 30, 464–471.
- Ulrich, K., Aitken, P.N., Abraham, W.C., Dalrymple-Alford, J.C., McNaughton, N., 2014. Effects of thalamic lesions on repeated relearning of a spatial working memory task. *Behav. Brain Res.* 261, 56–59.
- Valerio, S., Taube, J.S., 2012. Path integration: how the head direction signal maintains and corrects spatial orientation. *Nat. Neurosci.* 15, 1445–1453.
- van Groen, T., Kadish, I., Michael Wyss, J., 2002a. Role of the anterodorsal and anterovernal nuclei of the thalamus in spatial memory in the rat. *Behav. Brain Res.* 132, 19–28.
- van Groen, T., Kadish, I., Wyss, J.M., 2002b. The role of the laterodorsal nucleus of the thalamus in spatial learning and memory in the rat. *Behav. Brain Res.* 136, 329–337.
- Van Groen, T., Vogt, B.A., Wyss, J.M., 1993. Interconnections between the thalamus and retrosplenial cortex in the rodent brain. In: Vogt, B.A., Gabriel, M. (Eds.), *Neurobiology of Cingulate Cortex and Limbic Thalamus*. Birkhäuser, Boston, pp. 123–150.
- Vann, S.D., 2009. Gudden's ventral tegmental nucleus is vital for memory: re-evaluating diencephalic inputs for amnesia. *Brain* 132, 2372–2384.
- Vann, S.D., 2013. Dismantling the Papez circuit for memory in rats. *eLife* 2, e00736.
- Vann, S.D., Erichsen, J.T., O'Mara, S.M., Aggleton, J.P., 2011. Selective disconnection of the hippocampal formation projections to the mammillary bodies produces only mild deficits on spatial memory tasks: implications for fornix function. *Hippocampus* 21, 945–957.
- Victor, M., Adams, R., Collins, G., 1971. The Wernicke–Korsakoff Syndrome. F.A. Davis, Philadelphia, PA.
- Warburton, E.C., Aggleton, J.P., 1999. Differential deficits in the Morris water maze following cytotoxic lesions of the anterior thalamus and fornix transection. *Behav. Brain Res.* 98, 27–38.
- Warburton, E.C., Baird, A., Morgan, A., Muir, J.L., Aggleton, J.P., 2001. The conjoint importance of the hippocampus and anterior thalamic nuclei for allocentric spatial learning: evidence from a disconnection study in the rat. *J. Neurosci.* 21, 7323–7330.
- Warburton, E.C., Baird, A.L., Aggleton, J.P., 1997. Assessing the magnitude of the allocentric spatial deficit associated with complete loss of the anterior thalamic nuclei in rats. *Behav. Brain Res.* 87, 223–232.
- Warburton, E.C., Baird, A.L., Morgan, A., Muir, J.L., Aggleton, J.P., 2000. Disconnecting hippocampal projections to the anterior thalamus produces deficits on tests of spatial memory in rats. *Eur. J. Neurosci.* 12, 1714–1726.
- Warburton, E.C., Morgan, A., Baird, A.L., Muir, J.L., Aggleton, J.P., 1999. Does pretraining spare the spatial deficit associated with anterior thalamic damage in rats? *Behav. Neurosci.* 113, 956–967.
- Ward-Robinson, J., Wilton, L.A., Muir, J.L., Honey, R.C., Vann, S.D., Aggleton, J.P., 2002. Sensory preconditioning in rats with lesions of the anterior thalamic nuclei: evidence for intact nonspatial ‘relational’ processing. *Behav. Brain Res.* 133, 125–133.
- Warrington, E.K., Weiskrantz, L., 1982. Amnesia: a disconnection syndrome? *Neuropsychologia* 20, 233–248.
- Watanabe, Y., Funahashi, S., 2012. Thalamic mediadorsal nucleus and working memory. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 36, 134–142.

- Wilton, L.A., Baird, A.L., Muir, J.L., Honey, R.C., Aggleton, J.P., 2001. Loss of the thalamic nuclei for “head direction” impairs performance on spatial memory tasks in rats. *Behav. Neurosci.* 115, 861–869.
- Winocur, G., 1985. The hippocampus and thalamus: their roles in short- and long-term memory and the effects of interference. *Behav. Brain Res.* 16, 135–152.
- Winocur, G., 1990. Anterograde and retrograde amnesia in rats with dorsal hippocampal or dorsomedial thalamic lesions. *Behav. Brain Res.* 38, 145–154.
- Wolff, M., Gibb, S.J., Cassel, J.C., Dalrymple-Alford, J.C., 2008a. Anterior but not intralaminar thalamic nuclei support allocentric spatial memory. *Neurobiol. Learn. Mem.* 90, 71–80.
- Wolff, M., Gibb, S.J., Dalrymple-Alford, J.C., 2006. Beyond spatial memory: the anterior thalamus and memory for the temporal order of a sequence of odor cues. *J. Neurosci.* 26, 2907–2913.
- Wolff, M., Loukavenko, E.A., Will, B.E., Dalrymple-Alford, J.C., 2008b. The extended hippocampal–diencephalic memory system: enriched housing promotes recovery of the flexible use of spatial representations after anterior thalamic lesions. *Hippocampus* 18, 996–1007.
- Yoganarasimha, D., Knierim, J.J., 2005. Coupling between place cells and head direction cells during relative translations and rotations of distal landmarks. *Exp. Brain Res.* 160, 344–359.
- Young, H.L., Stevens, A.A., Converse, E., Mair, R.G., 1996. A comparison of temporal decay in place memory tasks in rats (*Rattus norvegicus*) with lesions affecting thalamus, frontal cortex, or the hippocampal system. *Behav. Neurosci.* 110, 1244–1260.
- Zelikowsky, M., Bissiere, S., Fanselow, M.S., 2012. Contextual fear memories formed in the absence of the dorsal hippocampus decay across time. *J. Neurosci.* 32, 3393–3397.
- Zhang, Y., Burk, J.A., Glode, B.M., Mair, R.G., 1998. Effects of thalamic and olfactory cortical lesions on continuous olfactory delayed nonmatching-to-sample and olfactory discrimination in rats (*Rattus norvegicus*). *Behav. Neurosci.* 112, 39–53.

Chapitre 3 : Bases associatives de la décision

Dans le cadre des opérations élémentaires de la décision, mon travail s'est intéressé aux bases neurocognitives des processus d'apprentissage permettant au sujet d'acquérir les valeurs relatives aux stimuli et aux actions présents dans l'environnement. Ces processus, à la base de la prédiction des événements et du contrôle de l'action dirigée vers un but, jouent un rôle déterminant dans l'évaluation des options possibles lors du choix. De même, il est apparu qu'ils constituent des éléments fondamentaux de la flexibilité comportementale. Ces processus sont étudiés dans le cadre du corpus théorique et méthodologique des apprentissages associatifs (Balleine et O'Doherty, 2010 ; de Wit et Dickinson, 2009). Les outils méthodologiques qui en ont découlé permettent ainsi l'étude des bases neurobiologiques des processus élémentaires de la décision. Ce chapitre vise à synthétiser les principaux aspects théoriques ainsi qu'à caractériser les bases neurobiologiques de ces processus.

1) Bases théoriques et neurobiologiques de la prédiction

1) Le conditionnement Pavlovien : modèle d'étude de la prédiction

Le conditionnement Pavlovien correspond à l'apprentissage par un individu des relations entre différents éléments de son environnement qui se manifestent indépendamment de son comportement, ce qui lui permet ainsi de prédire et d'anticiper des événements (Rescorla, 1988). On fait classiquement remonter les débuts de l'étude de ces processus aux expériences classiques de Pavlov (Pavlov, 1927), qui ont permis d'établir que si la présentation d'un **stimulus inconditionnel** biologiquement significatif (par exemple la présentation d'une récompense alimentaire) va entraîner une **réponse inconditionnelle** (réaction de salivation), la présentation répétée d'un **stimulus conditionnel apparié au stimulus inconditionnel** (un stimulus sonore, la fameuse cloche), à terme, sera suffisante pour produire la réponse inconditionnelle (le son de la cloche suffira à produire la réaction de salivation), qui sera dès lors mieux définie par le terme de **réponse conditionnée**.

Néanmoins, il est important de souligner que le conditionnement Pavlovien implique l'apprentissage des relations entre deux événements, qui peuvent être multiples et complexes, et qu'il ne s'agit donc pas d'un simple transfert de la réponse inconditionnelle du stimulus inconditionnel vers le stimulus conditionnel (Rescorla, 1988).

a) Les contingences Pavloviennes

Initialement, il a été proposé que la faculté d'associer un stimulus à une récompense dépende essentiellement de la relation entre un stimulus et la récompense (Kimble, 1947). La relation de contiguïté se définit comme l'intervalle de temps séparant le stimulus de la récompense qu'il prédit. Il est alors admis que plus cet interval est court, plus le conditionnement est efficace. Cependant, les expériences princeps de Kamin (Kamin, 1968), et de Rescorla (Rescorla, 1968), vont démontrer que la contiguïté n'est pas suffisante pour établir un conditionnement Pavlovien, au contraire de la relation de contingence qui est primordiale.

La contiguïté n'est pas suffisante à la formation d'association Pavlovienne

Dans son expérience princeps, Kamin (Kamin, 1968) procède dans un premier temps à un conditionnement Pavlovien classique où les rats peuvent apprendre que la présentation d'un stimulus A annonce la survenue d'une récompense X ($A \rightarrow X$). Dans un deuxième temps, un deuxième stimulus B est introduit de façon concomitante à A, toujours pour annoncer la même récompense X ($AB \rightarrow X$). Enfin, lors d'un test où B est présenté isolément, Kamin observe que cette présentation de B ne produit pas de réponse conditionnée. En effet, l'association Pavlovienne A-X initiale permet déjà de prédire totalement la survenue de X, la valeur prédictive de B est donc nulle. **Ainsi, bien que le deuxième stimulus soit contigu avec la récompense, cela n'est pas suffisant à la formation d'une association Pavlovienne.**

Le principe de contingence selon Rescorla

La même année, Rescorla introduit la notion de contingence comme élément central dans la formation d'un conditionnement Pavlovien (Rescorla, 1968). La contingence se réfère à la probabilité d'apparition de stimulus inconditionnel (US) en présence du stimulus conditionnel (CS) que l'on peut formaliser par l'expression P_{CS}^{US} moins la probabilité

d'apparition de l'US en l'absence du CS, soit $P_{\epsilon S}^{US}$. Plus cette contingence sera positive, plus l'animal développera une réponse conditionnée lors de la présentation du stimulus conditionnel. Pour mettre ce principe en évidence, Rescorla propose une expérience de « suppression conditionnée ». Initialement, les rats doivent appuyer sur un levier pour obtenir une récompense alimentaire. Lors de la phase de conditionnement Pavlovien, un signal auditif annonce la survenue d'un choc électrique. La « suppression conditionnée » correspond donc à la réponse conditionnée, soit l'arrêt des appuis pendant la présentation du stimulus conditionnel (le signal auditif). Rescorla montre alors que l'expression de la réponse conditionnée est positivement corrélée avec la contingence (**Figure 14**). Cette expérience illustre bien que **le niveau d'expression de la réponse conditionnée dépend fortement de la relation de contingence entre les stimuli conditionnel et inconditionnel**, confirmant la place centrale de la relation de contingence dans les conditionnements Pavloviens.

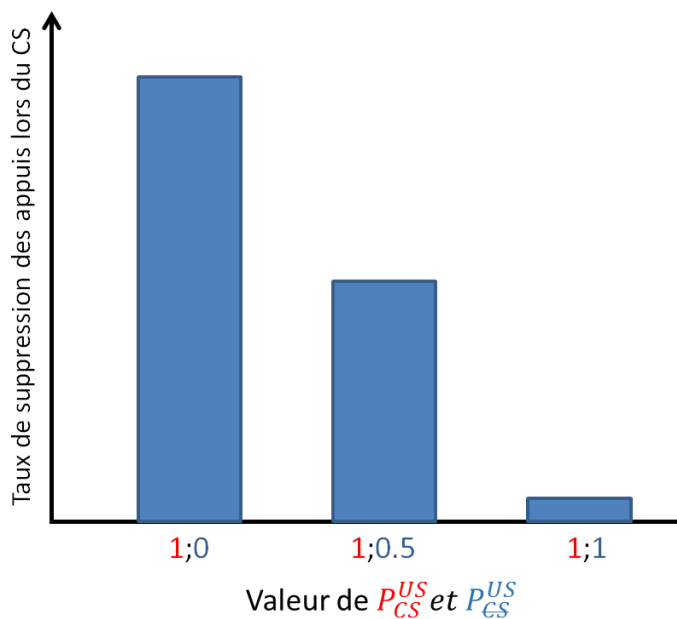


Figure 14: Taux de suppression des appuis lors de la présentation du stimulus conditionnel. Dans le premier cas (1;0), les animaux ont appris que le choc n'était distribué que pendant le stimulus, qui est donc pleinement prédictif du choc et le taux de suppression des appuis est par conséquent maximal. Quand la relation de contingence est diminuée en délivrant des chocs également en l'absence du stimulus conditionnel, la valeur prédictive de ce stimulus diminue et par conséquent, l'expression de la réponse conditionnée diminue également.

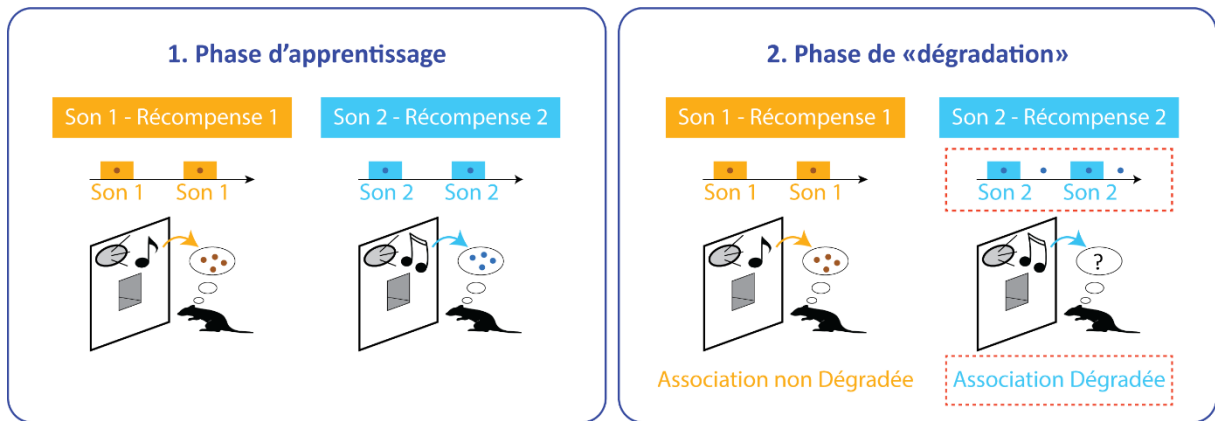
Ainsi, il apparait que la capacité à prédire un événement dépend notamment de la capacité à encoder et à représenter la relation de contingence entre différents stimuli.

La dégradation de contingence Pavlovienne

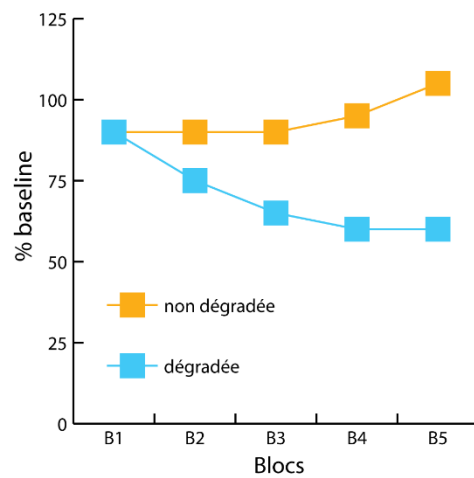
L'expérience décrite précédemment illustre bien que le niveau de la réponse conditionnée dépend de la relation de contingence entre stimuli et notamment de la valeur prédictive du stimulus conditionnel. Ceci prend tout son sens si l'on considère que dans un environnement naturel, fondamentalement dynamique, les différents événements et leurs relations réciproques sont susceptibles d'évoluer au cours du temps. En particulier, une évolution importante est qu'un stimulus doté un certain temps d'une forte valeur prédictive concernant la survenue d'un événement particulier peut cesser brusquement d'être pertinent. L'individu est alors amené à reconsidérer la relation de contingence entre ces éléments et en particulier à mettre à jour la valeur prédictive du stimulus conditionnel. Un protocole de dégradation de la contingence Pavlovienne, dont le fonctionnement général est décrit sur la **Figure 15A**, vise très exactement à modéliser ce processus (Ostlund et Balleine, 2007c, 2008a).

En « dégradant » la relation de contingence entre un stimulus prédictif et une récompense alimentaire, il est ainsi possible de démontrer que **la représentation de cette relation de contingence fait l'objet d'une mise à jour** car l'animal perd alors de l'intérêt pour le stimulus conditionnel dont la valeur prédictive a été diminuée (**Figure 15B**). De façon importante, cette réponse adaptative se manifeste même en l'absence du retour sensoriel fourni par la consommation de la récompense (test en conditions d'extinction, **Figure 15C**), ce qui confirme **que les animaux ont correctement intégré les nouvelles contingences Pavloviennes, et sont capables de se les représenter pour guider leurs comportements, même en l'absence de retour sensoriel.**

A



B



C

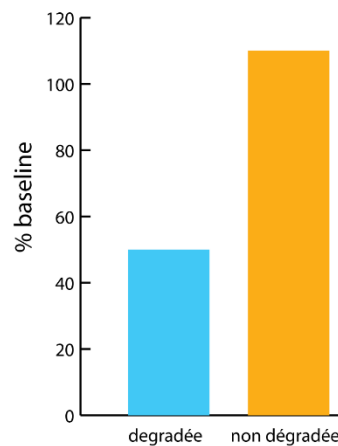


Figure 15 : (A) Principe de la dégradation Pavloviennne chez le rat. Dans une première phase d'apprentissage, l'animal apprend à associer deux stimuli (ici deux sons) avec l'occurrence de deux récompenses. Dans une phase successive de dégradation, une des deux récompenses a une même probabilité d'être distribuée pendant le son et pendant les intervalles séparant les sons (ITI). La contingence entre le son et la récompense est dégradée, le son n'est alors plus un bon prédicteur de l'occurrence de la récompense. (B) Pourcentage de visites à la mangeoire par rapport à la dernière séance d'entraînement lors de la phase de dégradation. Le rat diminue sélectivement les visites à la mangeoire lors de la présentation du son dégradé. (C) % de visite lors du test en extinction, prenant place après la dégradation. Lors de ce test, les deux sons sont présentés successivement, mais ne sont pas récompensés, forçant l'animal à utiliser une représentation mentale des contingences. Le rat diminue alors sélectivement ses visites lors de la présentation du son dégradé.

b) La représentation de la récompense

Outre la relation de contingence entre éléments de l'environnement, un autre paramètre susceptible d'influer sur l'expression de la réponse conditionnée est une évolution de la valeur que l'individu peut attribuer à l'un de ces éléments, particulièrement quand il s'agit de l'élément qui est prédit par le stimulus conditionnel. En effet, si l'on prend l'exemple d'une récompense, on attend d'un sujet qui représente la valeur de cette récompense qu'il modifie son comportement si cette valeur est altérée. Pour évaluer cet encodage de la valeur de l'élément prédit par un stimulus conditionnel, des paradigmes de

dévaluation ont été proposés. Ils ont permis d'établir qu'en effet, à l'instar de la relation de contingence, la valeur des éléments associés est également représentée.

Diminuer la valeur de la récompense

Pour diminuer la valeur d'une récompense, il est d'abord possible de lui associer une condition désagréable si bien que cette récompense devient désormais non désirable. Cette première stratégie a été initialement exploitée en procédant à des injections de solution de chlorure de lithium (LiCl) à des animaux qui viennent de consommer la récompense (Garcia, Kimeldorf, & Koelling, 1955). Cette injection produisant un malaise gastrique, les animaux vont associer cette sensation de malaise à la récompense et vont donc rejeter cette récompense lors d'une présentation ultérieure, signe visible de la mise en place d'une **dévaluation par aversion conditionnée**. Toutefois, cette procédure est difficilement réversible et il peut être avantageux d'opter pour une stratégie moins inconfortable, en variant cette fois l'état de motivation interne de l'animal par une manipulation de la satiété. En effet, si une récompense est présentée en abondance à un animal et qu'il est libre d'en consommer à volonté, cette récompense n'aura que peu d'intérêt lorsqu'elle lui sera ultérieurement proposée dans le cadre d'une épreuve comportementale se déroulant immédiatement après cette phase de **dévaluation par satiété**, cette perte de la valeur de la récompense étant donc dans ce cas temporaire.

Dévaluation Pavlovienne

Dans les expériences princeps de dévaluation de la récompense, une étape de conditionnement Pavlovien entre un stimulus prédictif et une récompense est nécessaire. Lorsque la récompense est dévaluée, par l'une des méthodes évoquées ci-dessus, l'observation classique est que la réponse adaptative du rat consiste à ignorer le stimulus prédictif qui lui est associé, c'est-à-dire que la réponse conditionnée de visite à la mangeoire est désormais diminuée pendant la présentation de ce stimulus (Colby et Smith, 1977 ; Holland et Rescorla, 1975 ; Holland et Straub, 1979 ; Holland, 1990). Ainsi, **cette réponse adaptative traduit le fait que l'animal a mis à jour la valeur courante de la récompense (en termes motivationnels et hédoniques) et que sa représentation de l'association stimulus-récompense (« stimulus-récompense », S-O) a été révisée en conséquence.**

De multiples associations peuvent être encodées et mises à jour de façon éventuellement différentielle. Ainsi, dans le cadre d'une procédure de dévaluation Pavlovienne typique (**Figure 16A**), deux stimuli conditionnels différents sont associés à deux récompenses qualitativement différentes mais dont les propriétés hédoniques sont similaires (Holland, 1990). Ainsi on peut procéder à une dévaluation sélective en manipulant uniquement la valeur de l'une de ces récompenses. Dans ce cas, une procédure de **dévaluation par satiété sélective** est particulièrement avantageuse : l'animal a la possibilité de consommer à volonté l'une des deux récompenses seulement. Puis, lors du test se déroulant en conditions d'extinction (pas de récompense), on peut alors évaluer le nombre de visites à la mangeoire pendant les deux stimuli. Alors que les visites à la mangeoire sont équivalentes pour les deux stimuli lors de la phase de conditionnement, elles sont maintenant largement diminuées uniquement pour le stimulus associé à la récompense dévaluée (**Figure 16B**), signe que l'animal a mis à jour de façon spécifique sa représentation de la valeur relative des récompenses associées aux deux stimuli prédictifs. En ce sens, on parle de dévaluation par satiété sensori-spécifique.

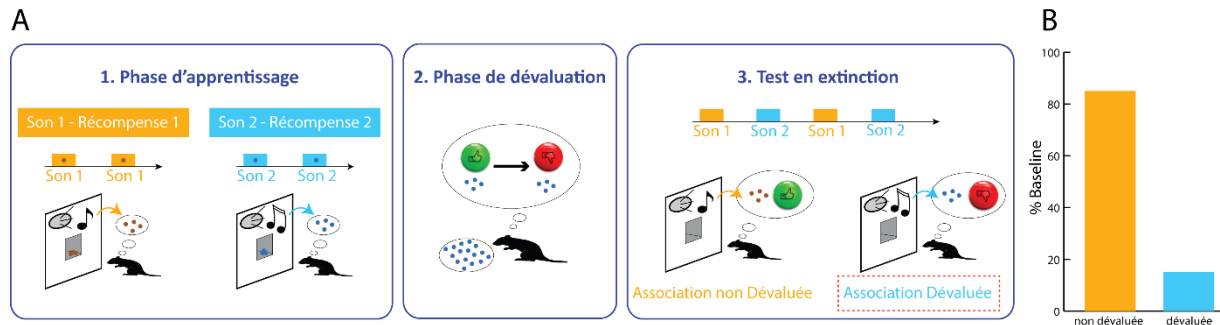


Figure 16 : (A) Expérience de dévaluation Pavlovienne chez le rat. 1. Les animaux apprennent dans un premiers temps à associer deux sons avec deux récompenses différentes. 2. Lors d'une phase de dévaluation sélective, l'une des deux récompenses est dévaluée, soit par aversion conditionnée, soit par satiété. 3. Immédiatement après, les animaux sont placés pour un test en extinction, pendant lesquels les deux sons sont présentés et les visites à mangeoires enregistrées. (B) Résultats du test en extinction. Les animaux diminuent leurs visites à la mangeoire spécifiquement lors de la présentation du son associé à la récompense dévaluée.

Ainsi, de telles expériences de dévaluation permettent d'établir que lors de l'apprentissage, **l'animal incorpore les propriétés sensori-spécifiques, hédoniques et motivationnelles de la récompense dans le cadre des associations S-O.**

c) Récapitulatif des processus cognitifs au sein de la prédiction

Le schéma suivant (**Figure 17**) récapitule les différents processus cognitifs mis en jeu lors d'un conditionnement Pavlovien, qui permettent de prédire et de répondre de manière adaptée à un stimulus.

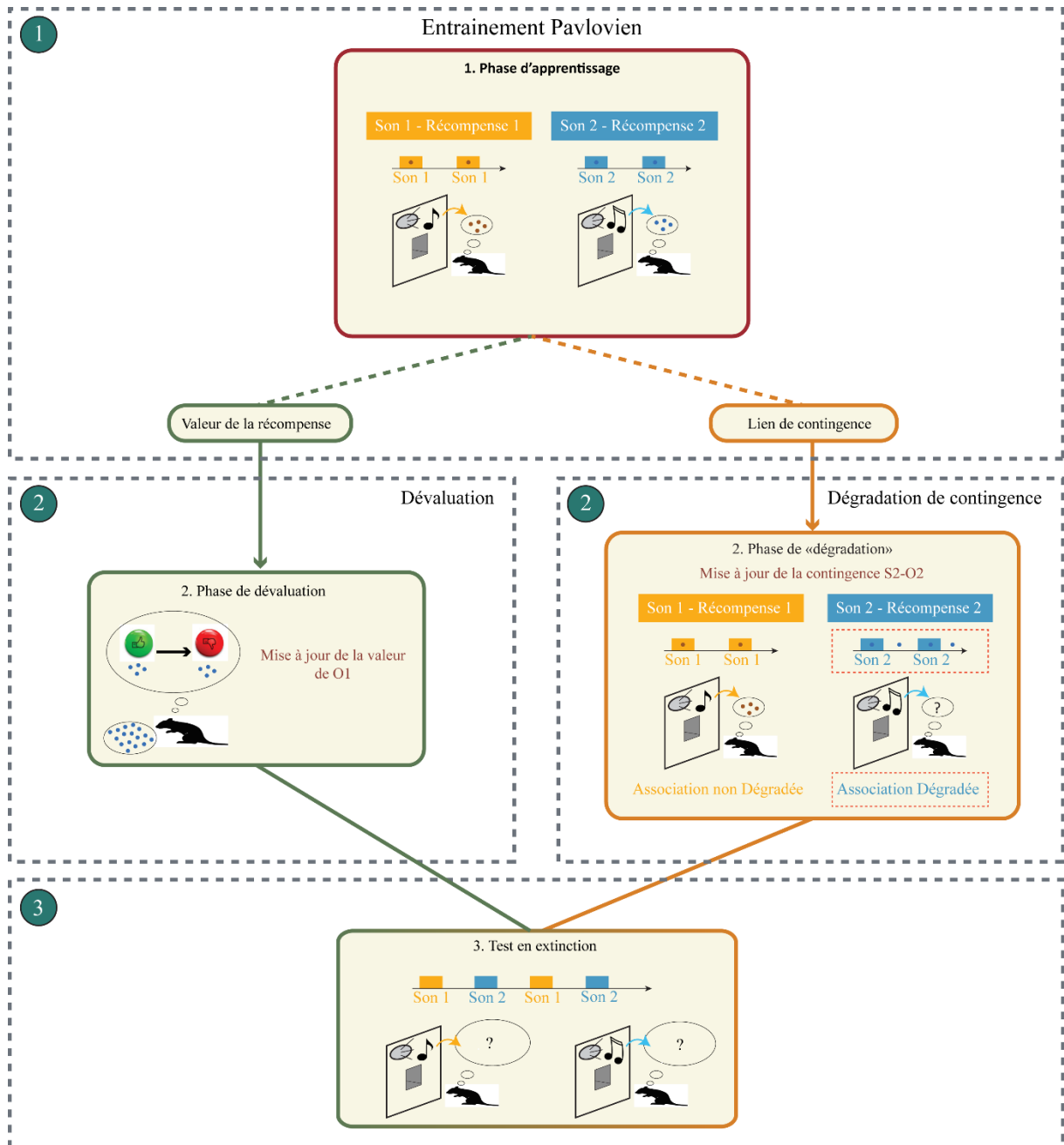


Figure 17 : L'étude des processus adaptatifs mis en œuvre lors d'un conditionnement Pavlovien se déroule en trois temps successifs. (1) Dans la phase initiale d'acquisition (le conditionnement Pavlovien à proprement parler), l'animal encode notamment la valeur de la récompense et le lien de contingence entre stimuli prédictifs et les récompenses qui leur sont associées. (2) Ces deux composantes peuvent ensuite être manipulées de façon sélective par des procédures de dévaluation (satiété sensori-spécifique) ou de dégradation de la contingence. (3) La capacité à mettre à jour les représentations de la valeur et du lien de contingence en fonction de ces manipulations est alors évaluée lors d'un test en extinction.

En conclusion, les processus de prédiction sont essentiels pour permettre à l'animal d'anticiper et de se préparer à la survenue d'un événement. **Cependant, pour que ces comportements préparatoires soient adaptés, il est nécessaire de pouvoir mettre à jour la représentation de la valeur et du lien de contingence.**

2) Bases neurobiologiques de la prédiction

a) Structures impliquées dans les processus de prédiction

L'approche classique pour identifier les structures cérébrales qui peuvent jouer un rôle dans les conditionnements Pavlovien, consiste à réaliser des lésions de ces structures, typiquement avant le conditionnement, et à évaluer l'impact fonctionnel de ces lésions dans des paradigmes de dévaluation ou de dégradation Pavlovienne. On peut dès à présent souligner qu'un nombre finalement assez restreint d'études forme le socle de l'état de l'art dans le domaine et que le périmètre des circuits neuronaux supportant ces processus n'est par conséquent que relativement sommairement délimité. Néanmoins, une insensibilité au processus de dévaluation Pavlovienne a été observée chez le rat, consécutivement à des lésions de l'OFC (Gallagher, McMahan et Schoenbaum, 1999), de l'amygdale basolatérale (Hatfield et al., 1996; Blundell et al., 2003) , du noyau accumbens (Lex et Hauber, 2010b ; Singh et al., 2010) et du MD (Pickens, 2008). Chez le singe, un rôle identique pour l'OFC (Izquierdo, Suda et Murray, 2004 ; Machado et Bachevalier, 2007) et l'amygdale basolatérale (Málková et al., 1997) a également été démontré. Typiquement, la réponse conditionnée est alors similaire quel que soit le statut du stimulus prédictif proposé (dévalué versus non dévalué). Cette stratégie a donc le mérite d'identifier un certain nombre d'éléments d'un potentiel circuit comme le suggère l'existence d'interconnexions importantes entre certains de ces éléments comme l'OFC, l'amygdale basolatérale et le MD (Bouwmeester, Smits, et Van Ree, 2002 ; Gabbott et al., 2005 ; Groenewegen, 1988 ; Hoover et Vertes, 2011 ; Timbie et Barbas, 2015). Néanmoins, le rôle fonctionnel spécifique de chaque élément reste à préciser.

b) Acquisition et mise à jour de la valeur de stimuli prédictifs

Une solution relativement immédiate pour évaluer l'étape qui mobilise plus particulièrement une structure consiste à comparer l'effet de lésions effectuées avant et après le conditionnement. Malheureusement, très peu de données ont été collectées en ce sens. On peut néanmoins observer qu'en ce qui concerne l'OFC, une lésion effectuée après le conditionnement mais avant la phase de dévaluation provoque la même insensibilité de la réponse à la procédure de dévaluation que les lésions effectuées avant ce conditionnement (Pickens et al., 2003a, 2005). Ce constat est de nature à souligner **un rôle primordial pour l'OFC dès lors que l'animal doit organiser son comportement sur la base d'une anticipation de la récompense**. L'implication de l'amygdale basolatérale a également été étudiée selon ces modalités mais la lecture des résultats est moins évidente. En effet, il a d'abord été démontré qu'au contraire de l'OFC, la lésion du BLA réalisée après le conditionnement n'altère pas la sélectivité de la réponse lors d'un test effectué après l'étape de dévaluation Pavlovienne (Pickens et al., 2003a). Toutefois, dans cette étude, l'animal devait encoder une seule association Pavlovienne. Depuis, il a été montré que lorsque de multiples associations sont proposées, la lésion du BLA entraîne bien une insensibilité à la dévaluation, même lorsqu'elle est pratiquée après le conditionnement (Johnson, Gallagher et Holland, 2009). Ainsi, le rôle du BLA pourrait différer de celui de l'OFC en étant plus spécifiquement impliqué dans **la représentation du lien entre stimuli prédictifs et propriétés incitatives de la récompense**, peut-être plus prépondérant dans des situations où de multiples stimuli sont présentés. En fait, une seule étude, menée par Corbit et Janak, a permis d'identifier sans ambiguïté un rôle spécifique pour une structure lors de la phase de conditionnement et il s'agit du **striatum dorsal lors de l'acquisition des contingences Pavloviennes**. En effet, une inactivation réversible aussi bien du striatum postérieur dorsomédian que du striatum dorsolatéral durant la phase de conditionnement rend les animaux insensibles à la dévaluation, alors même que ces structures sont fonctionnelles durant ce test (Corbit et Janak, 2010).

Ainsi, concernant les contributions de l'OFC et du BLA, la comparaison de l'effet de lésions effectuées avant et après le conditionnement ne permet pas réellement d'identifier une phase spécifique pendant laquelle ces structures seraient prépondérantes mais met au

contraire en évidence leur implication dans des processus fondamentaux pour établir un lien entre stimuli prédictifs et les propriétés incitatives des récompenses.

c) Dégradation de contingence Pavlovienne

La capacité à mettre à jour la contingence Pavlovienne entre un stimulus prédictif et une récompense, a été encore plus faiblement étudiée. Les données principales rapportent que la lésion à l'issue de la phase de conditionnement et avant la phase de dégradation de l'OFC (Ostlund et Balleine, 2007b), du MD (Ostlund et Balleine, 2008a) ou du BLA (Ostlund et Balleine, 2008a) provoque une absence de réponse adaptative chez les animaux durant la phase de dégradation. Une atteinte de chaque élément de ce circuit interconnecté (Bouwmeester, Smits, et Van Ree, 2002 ; Gabbott et al., 2005 ; Groenewegen, 1988 ; Hoover et Vertes, 2011) affecte donc sévèrement la capacité à mettre à jour les contingences Pavloviennes.

Dans l'ensemble, au vu du tableau assez mince que ces données permettent de dresser, il nous est nécessaire de considérer d'autres types d'approches pour appréhender plus finement le rôle fonctionnel de ces structures.

d) Données électrophysiologiques

Le cortex orbitofrontal

On doit au groupe de Geoffrey Schoenbaum une contribution très significative en ce qui concerne la conception actuelle du rôle de l'OFC, notamment par des approches d'électrophysiologie *in vivo* chez le Rat se comportant (McDannald et al., 2014 ; Schoenbaum, Chiba et Gallagher, 1998 ; Schoenbaum, Setlow et Ramus, 2003 ; Schoenbaum et al., 2010 ; Stalnaker et al., 2014). Ainsi, lorsque l'activité électrique des neurones de l'OFC est enregistrée durant une épreuve durant laquelle un stimulus prédit la survenue d'une récompense, il a été montré qu'en début d'apprentissage, les neurones de l'OFC déchargeaient majoritairement à la présentation de la récompense. Progressivement, cette activité électrique devient toutefois évidente dès la présentation du stimulus prédictif (Schoenbaum, Chiba et Gallagher, 1998 ; Schoenbaum et al., 2010) et en fin d'entraînement, **les neurones de l'OFC déchargent dès la présentation du stimulus prédictif et**

maintiennent leur activité jusqu'à la présentation de la récompense (Figure 18, gauche). Un aspect critique de cette activité électrique est qu'elle permet notamment de représenter la valeur **inférée** de la future récompense, alors même que la récompense n'a pas encore été échantillonnée (McDannald et al., 2014 ; Stalnaker et al., 2014). Au vu des données lésionnelles et de ces données électrophysiologiques, il semble clair que l'OFC est une structure critique pour **représenter la valeur et l'identité d'une récompense à partir d'un stimulus prédictif** (Stalnaker et al., 2014).

Enfin, un aspect notable caractérisant l'OFC concerne l'activité électrique maintenue dans le temps qui peut s'y observer, durant tout le temps séparant la survenue du stimulus prédictif de celle de la récompense qui lui est associée. A ce titre, cette activité se différencie clairement d'un signal d'erreur de prédiction (Schoenbaum et al., 2010)(**Figure 18, droite**) dont nous allons maintenant exposer les caractéristiques principales.

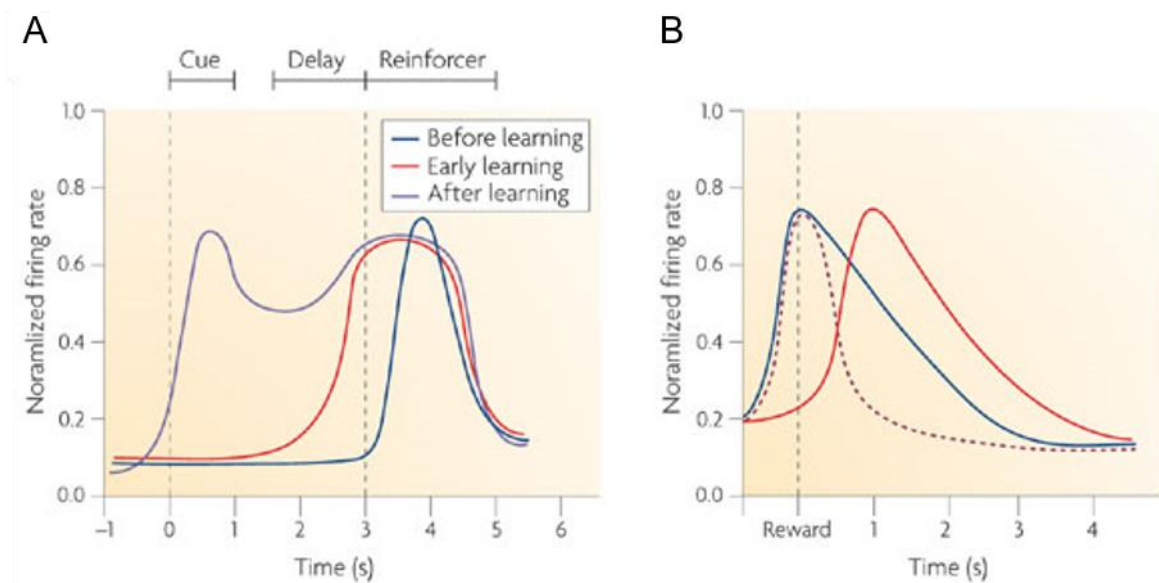


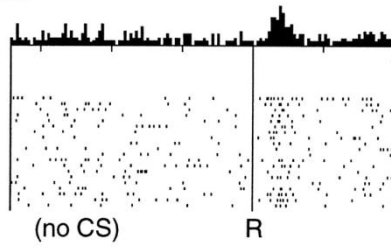
Figure 18 : Enregistrement de l'activité des neurones de l'OFC pendant une association Pavlovienne. A : exemple du pattern d'activité des neurones orbitofrontaux à différentes phases de l'entraînement. Alors que les neurones répondent d'abord à la présentation de la récompense, ils vont progressivement étendre leur activité de la présentation du son à l'obtention de la récompense. A droite, exemple de l'activité des neurones de l'OFC lors d'un entraînement étendu. B : Malgré un entraînement soutenu, les neurones continuent de décharger à la présentation du son. De plus, le pattern de décharge ne se modifie pas selon le caractère inattendu de la récompense, ou bien selon son omission. Ces caractéristiques différencient clairement l'activité de l'OFC de l'activité des neurones dopaminergiques de la VTA, et place ainsi plutôt l'OFC dans la signalisation d'un évènement à venir que dans la genèse d'un signal d'erreur de prédiction. Adapté de Schoenbaum et al., 2009

Erreur de prédiction et signal dopaminergique

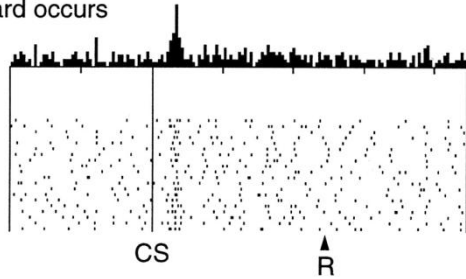
Les travaux princeps de Schultz et collaborateurs (Schultz, Dayan et Montague, 1997 ; Schultz, 1998) ont permis d'identifier un rôle tout à fait particulier de la dopamine au niveau central dans le cadre des apprentissages associatifs. En effet, comme nous l'avons abordé plus tôt, l'association entre un stimulus conditionnel et un stimulus inconditionnel est largement catalysée par l'occurrence initialement « inattendue » du stimulus inconditionnel. Cet élément de surprise est le moteur de l'apprentissage, et c'est par ailleurs un élément central de l'équation de Rescorla-Wagner permettant de décrire le conditionnement Pavlovien (Rescorla et Wagner, 1972). Dans ce cadre, l'apport de Schultz est de démontrer que l'activité du système dopaminergique dans le cadre de ces apprentissages présente toutes les caractéristiques adéquates pour implémenter au plan neurobiologique un signal d'erreur de prédiction.

Ainsi, lors d'épreuves de conditionnement pavlovien chez le singe, Schultz (Schultz, Dayan et Montague, 1997) a enregistré le niveau d'activation des neurones dopaminergiques à la présentation d'une récompense alimentaire. Il montre que la décharge des neurones dopaminergiques en réponse à la présentation de la récompense est d'autant plus grande que la récompense est inattendue (**Figure 19**, haut). Par contraste, l'activation dopaminergique n'avait pas lieu lorsque la récompense était pleinement prédite (**Figure 19**, milieu), et un arrêt transitoire de l'activité dopaminergique apparaissait lorsque la récompense était plus faible que prédite, ou omise (**Figure 19**, bas, Schultz et al., 1997; Schultz, 1998). Ainsi, Schultz développe l'idée que **l'activation dopaminergique servirait de signal d'erreur de prédiction, avec une erreur de prédiction positive lorsque la récompense est plus importante qu'attendue, nulle quand elle est égale à ce qui été attendue, et négative lorsque elle est plus basse qu'attendue**. C'est dans ce cadre que l'erreur de prédiction correspondrait à la notion de surprise développée dans l'équation de Wagner. De fait, Schultz propose donc que l'activité des neurones dopaminergiques corresponde au différentiel entre la récompense obtenue et la récompense prédite, caractéristiques également identifiées chez le rongeur (Phillips et al., 2003) et l'Homme (McClure, Berns et Montague, 2003 ; O'Doherty et al., 2004, 2003).

No prediction
Reward occurs



Reward predicted
Reward occurs



Reward predicted
No reward occurs

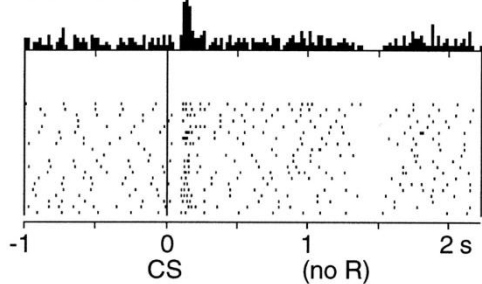


Figure 19 : Décharge des neurones dopaminergiques selon le caractère inattendu de la récompense. Haut : l'obtention d'une récompense non prédite entraîne une décharge des neurones dopaminergiques (erreur de prédiction positive). Milieu : après une phase d'apprentissage, les neurones dopaminergiques n'augmentent plus leur décharge au moment de la récompense, mais au moment du stimulus prédictif de cette récompense. Bas : Les neurones dopaminergiques stoppent leur activité lorsque qu'une récompense prédite n'est pas délivrée (erreur de prédiction négative). Adapté de Schultz et al., 1997.

e) Synthèse

En conclusion, notre connaissance des circuits de la prédiction est limitée. Un rôle spécifique pour le striatum dorsal à l'acquisition des contingences Pavloviennes a été proposé. Le cortex orbitofrontal apparaît comme l'une des structures les plus fondamentalement impliquée de par son rôle crucial dans les comportements basés sur l'anticipation de la valeur et de l'identité d'une récompense. A ce titre, cette région est vraisemblablement assistée par l'amygdale basolatérale, en particulier pour associer les propriétés sensorielles de la récompense avec ses propriétés hédoniques et motivationnelles. Par ailleurs, il existe des données de déconnexion entre ces deux régions qui vont en ce sens chez le singe (Murray et Izquierdo, 2007). Le rôle du noyau accumbens n'est pas clair à l'heure actuelle, tandis que celui du thalamus médiodorsal semble concerner plus spécifiquement la capacité à mettre à jour les contingences Pavloviennes. Comme nous

l'avons vu, le système dopaminergique joue certainement un rôle important dans ces processus de par son signal d'erreur mais préciser la contribution précise de ce système dans le circuit formé par les différents éléments évoqués est au-delà des enjeux de ce travail de thèse. On peut néanmoins signaler que la suppression des afférences dopaminergiques au niveau du noyau accumbens provoque effectivement une insensibilité à la dévaluation Pavlovienne (Lex et Hauber, 2010a). L'ensemble de ces données est synthétisé dans le **Tableau 1** ainsi que dans la **Figure 20**.

Structure	Entrainement	Dévaluation	Test de dévaluation	Dégradation
OFC	?	?	Oui Gallagher et al., 1999 Pickens et al., 2003 Pickens et al., 2005	Oui Ostlund et Balleine, 2007
Striatum dorsal : pDMS et DLS	Oui Corbit et Janak, 2010			
NAc	?	?	? Singh et al., 2010 Lex et Hauber, 2010 (DA, oui)	
BLA	?	?	? Hattfield et al., 1996 Málková et al., 1997 Blundell et al., 2003 Pickens et al., 2003 Johnson et al., 2009	Oui Ostlund et Balleine, 2008
MD	?	?	? Pickens, 2008	Oui Ostlund et Balleine, 2008

Tableau 1: Tableau récapitulatif des différentes données concernant les substrats neurobiologiques impliqués dans le conditionnement Pavlovien. La motion « oui » indique que cette structure est impliquée directement dans le processus cité en tête de colonne. Les points d'interrogations indiquent que les données actuelles ne permettent pas de statuer sur un rôle définitif de cette structure dans ce processus. Enfin, les cases vides indiquent qu'aucune expérience n'a été faite.

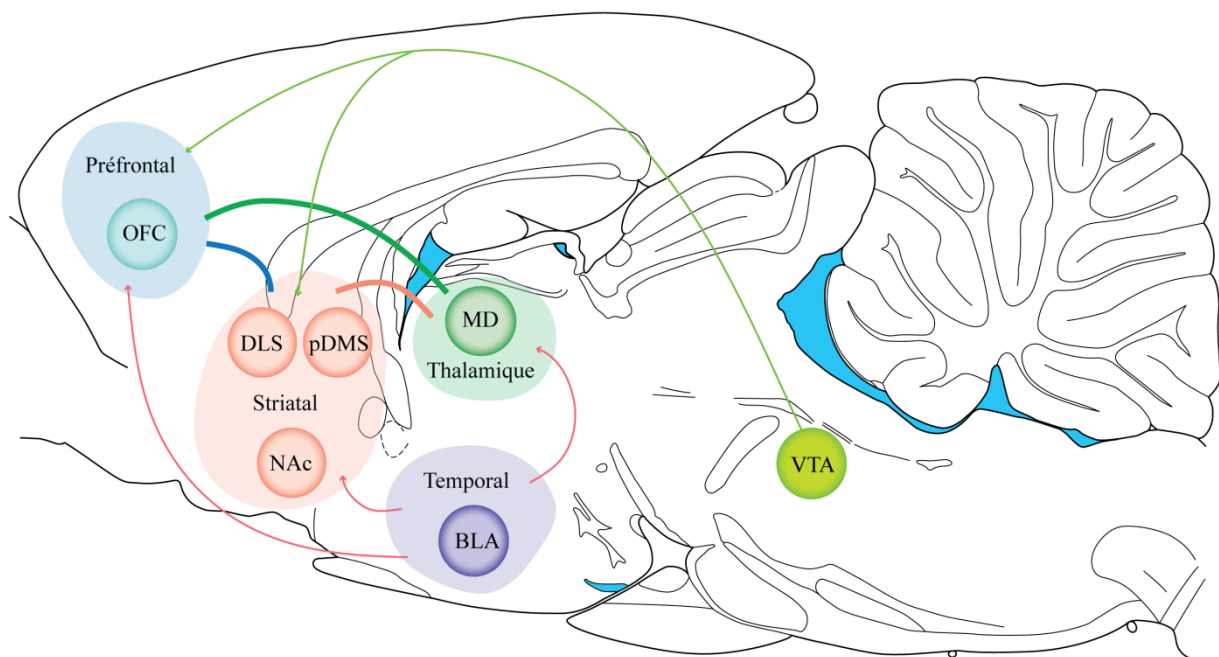


Figure 20 : Représentation des principaux étages et structures impliquées dans les processus de prédiction. Le schéma est centré sur les boucles préfront-striato-thalamo-préfrontales, sous la modulation de structures temporales et dopaminergiques

II) Le conditionnement instrumental

"Whereas Pavlovian conditioning enables an animal to anticipate motivationally significant events, it is **instrumental conditioning** that allows control over these events in the service of its needs and desires". C'est en ces termes que A. Dickinson en 1998, soulignait la différence majeure entre contingences pavloviennes et contingences instrumentales. De fait, la notion de contrôle comportemental est au centre des conceptions modernes concernant le conditionnement instrumental.

1) Théories S-R du conditionnement instrumental

Historiquement, les premières expériences de conditionnement instrumental commencent avec les travaux de Thorndike (Thorndike, 1911). Ces expériences consistaient à étudier le comportement d'un chat placé dans une « boîte à problème », dans laquelle l'animal effectuait une action pour en sortir et obtenir une récompense. L'observation majeure était que les animaux diminuaient au fur et à mesure des essais les actions inefficaces au profit de l'action d'intérêt. Selon Thorndike, ce comportement était dû à l'association entre un stimulus S (le contexte) et une réponse R (l'action), et la loi de

l'Effet: l'exécution d'une action R qui entraîne l'obtention d'une récompense en présence du stimulus S renforcerait l'association S-R, entraînant une plus forte probabilité chez l'animal de répéter cette réponse lorsqu'il se retrouvera en présence d'un stimulus semblable. Par la suite, Skinner (Skinner, 1938) introduit l'idée de **renforcement**, correspondant à un évènement qui modifie la probabilité de répéter l'action qui la précède. On peut distinguer un renforcement positif (par exemple l'obtention d'une récompense alimentaire) d'un renforcement négatif (arrêt de choc électrique). Dans une situation donnée, un individu va enclencher ou non une relation S-R en fonction du renforcement associé. Enfin les travaux de Hull (Hull, 1943) ont permis d'introduire la notion de **processus motivationnels** dans ces apprentissages. Selon lui, un animal privé de nourriture ou d'eau se créera naturellement un besoin alimentaire, entraînant une motivation (« *drive* ») pour l'obtention de nourriture. Lorsque ce besoin est assouvi (diminution du *drive*), l'animal stoppe son comportement. Ainsi, les processus motivationnels serviraient à renforcer l'association S-R afin d'augmenter la probabilité de répéter les réponses permettant de réduire les besoins.

2) Vers les actions dirigées vers un but

Le point fondamental des théories brièvement décrites ci-dessus réside dans le fait que la réponse instrumentale relève d'une association entre stimulus et réponse, la récompense ne servant qu'à renforcer cette association. Cette conception a été remise en question dans les années 1980, sous l'impulsion de Dickinson et Rescorla. Ces auteurs, en se basant sur le contrôle de l'action chez l'humain, ont introduit la notion d'action dirigée vers un but répondant à deux critères : le critère du but et de contingence.

a) Le critère du but

La première démonstration que les animaux encodent les conséquences de leur action remonte au début des années 80 (Adams, 1982, Adams & Dickinson, 1981). Cette étude classique comprend différentes phases qui sont schématisées sur la **Figure 21A**. Dans une première phase, les animaux étaient placés dans une cage de conditionnement et pouvaient librement appuyer sur un levier pour obtenir une récompense alimentaire (dans le cas présent une quantité fixée d'une solution d'eau sucrée). Dans une seconde phase, la

phase de **dévaluation**, la valeur de la récompense est altérée en associant la consommation de la récompense avec du LiCl. A l'issue de la dévaluation, les animaux sont replacés dans la cage de conditionnement et peuvent de nouveau appuyer librement sur le levier. Néanmoins, l'appui est inefficace puisqu'il n'engendre aucune conséquence particulière. De fait, cette procédure de test assure que la réponse de l'animal **résulte bien d'un processus d'utilisation de la représentation de valeur de la récompense**.

La **Figure 21B** illustre les résultats de cette étude. En comparaison du groupe contrôle NDev, les animaux du groupe Dev avaient une fréquence d'appuis sur le levier beaucoup plus faible. Ce résultat, fondateur pour ce domaine de recherche, démontre d'une part que l'animal encode l'association entre l'appui et la récompense durant l'entraînement et surtout qu'il est capable d'ajuster sa réponse en fonction d'une représentation de la valeur de la récompense. Depuis, ce résultat a été reproduit à de nombreuses reprises et dans des situations variées (Balleine et Dickinson, 1998 ; Balleine et O'Doherty, 2010 ; Pickens et Holland, 2004).

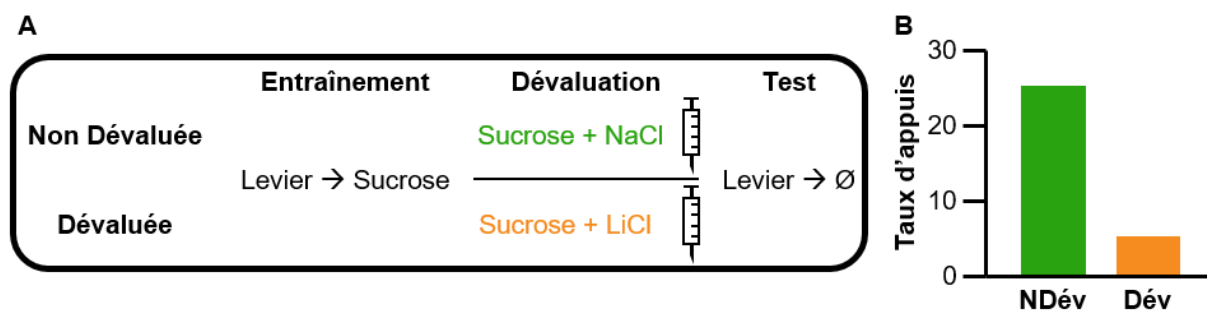


Figure 21 : (A) Expérience de dévaluation instrumentale selon le protocole de Adams et Dickinson, 1981. Des rats apprennent à associer un appui sur un levier avec l'obtention d'une récompense. Lors de la dévaluation de la récompense, deux groupes d'animaux sont créés, un groupe dévalué pour lequel la consommation de la récompense sera suivie d'une injection de LiCl, et un groupe non dévalué pour lequel la consommation de la récompense sera suivie d'une injection de NaCl. Lors du test en extinction, le levier est présenté mais non récompensé, forçant l'animal à utiliser la représentation de la récompense pour guider son comportement. (B) Résultat typique du test en extinction. Les rats du groupe dévalué adapte leur comportement à la nouvelle valeur de la récompense, et diminue leur appui sur le levier.

En particulier, des effets similaires ont été obtenus en utilisant une méthode alternative de dévaluation, à savoir la satiété sensorielle spécifique, telle que schématisée dans la **Figure 22** (Balleine et Dickinson, 1998 ; Killcross et Coutureau, 2003 ; Yin, Knowlton et Balleine, 2005). Cette procédure de dévaluation consiste, à l'issue de la phase d'entraînement, à fournir à l'animal d'importantes quantités de la nourriture ayant servis à entraîner les animaux. Comme le montre la **Figure 22B**, les animaux ainsi dévalués

présentent une activité d'appuis largement inférieure à celle d'animaux contrôles ayant reçu jusqu'à satiété une nourriture contrôlée.

Le contrôle de la réponse instrumentale par la représentation de la valeur du but a également été obtenu dans des procédures de choix, telle que schématisée dans la **Figure 22A** (Colwill et Rescorla, 1985 ; Naneix et al., 2009).

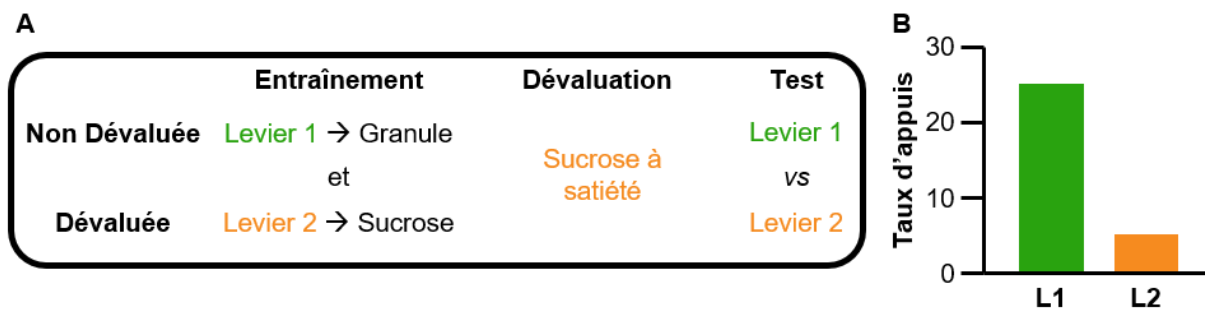


Figure 22 : (A) Expérience de dévaluation instrumentale selon le protocole utilisant deux actions et deux récompenses. Des rats apprennent à associer les appuis sur deux leviers avec l'obtention de deux récompenses. Une des deux récompenses est dévaluée par satiété. Lors du test en extinction, les deux leviers sont présentés mais non récompensés. (B) Résultat typique du test en extinction. Les rats diminuent sélectivement leurs appuis sur le levier associé à la récompense dévaluée, mais conservent des taux d'appuis normaux sur le levier associée à la récompense non dévaluée.

Il est important de noter que, même si les processus neurobiologiques sous-jacents divergent, des données de la littérature indiquent que la dévaluation obtenue par aversion par satiété sensorielle altère les mêmes propriétés de la récompense. En effet, des données issues de l'observation des mimiques orofaciales (Berridge, 2009) ont montré que ces deux traitements induisent un changement hédonique. En effet, alors que la présentation d'une récompense appréciée induit des mimiques orofaciales d'appétence, la dévaluation de cette même récompense change la valeur qui lui est attribuée puisque les mimiques orofaciales traduisent un dégoût.

b) Le critère de contingence

Même si la contiguïté entre action et récompense joue assurément un rôle dans le conditionnement instrumental (Dickinson, Watt et Griffiths, 1992), il est apparu que la contingence contrôlait fortement la réponse. De fait, en faisant varier la contingence (c'est-à-dire la différence de probabilité d'obtenir une récompense en effectuant une action moins la probabilité de l'obtenir sans l'effectuer), Hammond (Hammond, 1980) a montré que les

rats adaptaient leurs niveaux de réponse sur l'action en fonction de la contingence entre action et récompense (**Figure 23**).

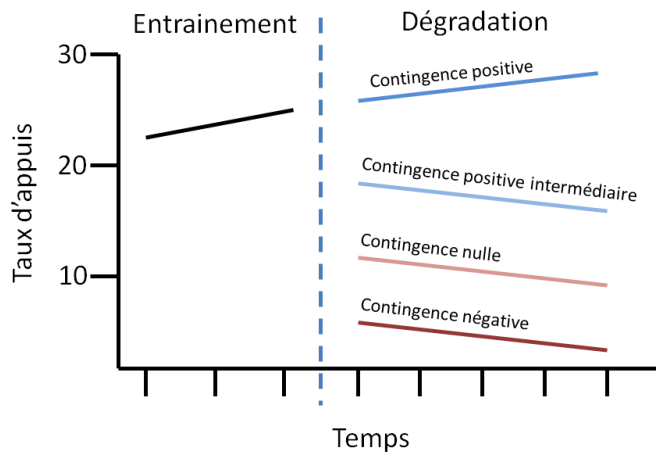


Figure 23: Adaptation d'une réponse instrumentale à la dégradation de contingence : Lors de la phase d'entraînement, la probabilité d'obtenir une récompense est plus importante en effectuant l'action qu'en ne l'effectuant pas. Lors de la phase de dégradation, la contingence est modifiée selon différents niveau pour chaque groupe d'animaux : positive (le seul moyen d'obtenir la récompense est d'effectuer l'action), intermédiaire (la probabilité d'obtenir une récompense est plus élevée en effectuant l'action qu'en ne la faisant pas); nulle (probabilité égale d'obtenir une récompense en faisant et en ne faisant pas l'action); négative (probabilité d'obtenir la récompense supérieur en ne faisant pas l'action qu'en la faisant). Plus la contingence est dégradée, moins les animaux effectuent l'action (adapté de Hammond 1980).

Ce résultat a été reproduit à de nombreuses reprises (Balleine et Dickinson, 1998 ; Dickinson et Mulatero, 1989 ; Ostlund et Balleine, 2005) et surtout en utilisant des procédures mieux contrôlées. En particulier, la délivrance de récompenses non contingentes est susceptible de favoriser l'émergence de comportements alternatifs (ex : visite à la mangeoire) qui pourraient entrer en compétition avec l'appui. De fait, un raffinement (Balleine et Dickinson, 1998) résulte de l'emploi d'une procédure de **dégradation sélective (Figure 24A)**. Comme illustré, la dégradation de la contingence a un impact déterminant sur la performance de l'animal (Lex et Hauber, 2010c ; Naneix et al., 2009 ; Ostlund et Balleine, 2005). Enfin, l'ajout d'un test en extinction (**Figure 24B, droite**) à l'issue de la phase de dégradation (Balleine et Dickinson, 1998) a permis d'indiquer qu'en l'absence de retour sensoriel, les animaux sont capables de se représenter les contingences spécifiques à chaque action.

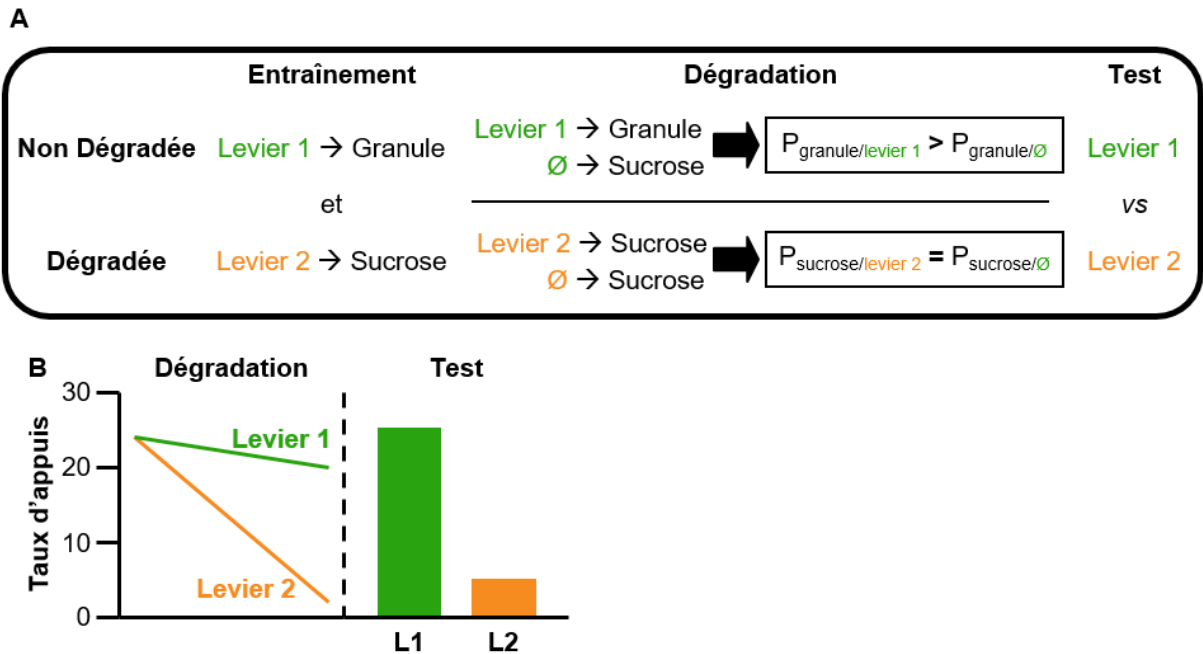


Figure 24 : (A) Protocole de dégradation de contingence instrumentale chez le rat. Les animaux associent deux actions différentes avec l'obtention de deux récompenses différentes. Dans une phase successive de dégradation, l'une des deux récompenses est distribuée sans appuis sur le levier selon la même probabilité que celle de l'obtenir après un appui. La contingence de l'action distribuant cette récompense est alors dégradée. Par contre, la contingence pour l'autre récompense est conservée. Suite à cette dégradation sélective, les rats sont testés lors d'une session en extinction. (B) à gauche, les résultats de la dégradation de contingence. Les animaux diminuent sélectivement leurs appuis sur l'action dégradée. A droite, les résultats du test en extinction. Les rats diminuent sélectivement leurs appuis sur l'action dégradée.

3) Les habitudes

Un corpus important de données a démontré que la réponse instrumentale n'était pas systématiquement sensible aux traitements post apprentissage que sont la dévaluation et la dégradation. Adams (1981) fut le premier à démontrer que la sensibilité de la réponse aux changements de valeur dépendait du degré d'entraînement de la réponse.

Comme l'illustre la **Figure 25**, la réponse était sensible à des changements dans la condition d'entraînement modérée mais pas dans la condition d'entraînement intensif, démontrant ainsi que sous l'effet de l'entraînement la nature de la réponse change. De tels résultats, illustrent l'idée selon laquelle la réponse instrumentale est sous le contrôle de deux influences : les réponses dirigées vers un but et les habitudes (S-R) (voir Dickinson, 1985).

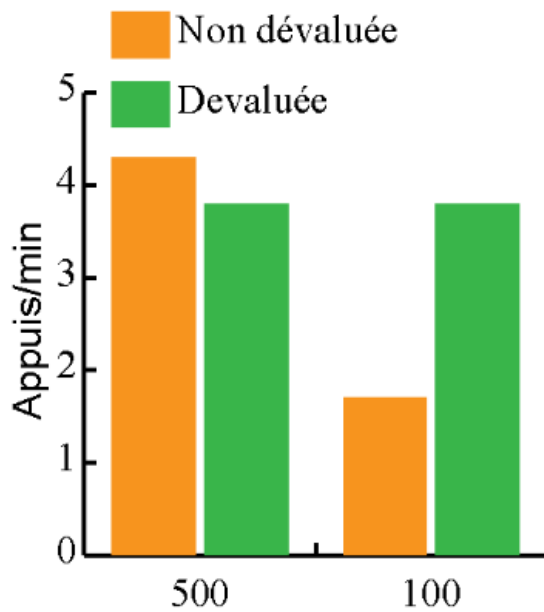


Figure 25 : Taux d'appuis sur l'action dévaluée et non dévaluée pendant un test en extinction pour un groupe de rat ayant reçu un entraînement intensif (groupe 500 : 500 appuis pendant l'entraînement), et pour un groupe de rat ayant reçu un entraînement modérée (groupe 100 : 100 appuis pendant l'entraînement). Adapté de Adams et Dickinson, 1981.

4) Les conditions de contrôle de la réponse

a) Programmes de renforcement

Le premier facteur à prendre en compte est celui des programmes de renforcement mis en œuvre lors de l'entraînement. Deux types de programme de renforcement sont généralement utilisés. Dans un programme en Ratio, un certain nombre de réponses doivent être émises avant qu'une réponse soit récompensée. Au contraire, c'est le temps qui constitue la contrainte dans un programme en intervalle puisque, suite au renforcement d'une réponse, un laps de temps est imposé pour qu'une réponse émise ultérieurement soit récompensée. Par ailleurs, les valeurs des ratios et intervalles peuvent être fixes ou variables. La mise en œuvre de ces types de programme de renforcement a des conséquences importantes sur le patron d'appuis comme l'ont démontré de nombreux auteurs (Catania et Reynolds, 1968 ; Ferster et Skinner, 1957 ; Reed, 2007). Ces patrons sont illustrés dans la **Figure 26** adaptée de Reynolds (Reynolds, 1975).

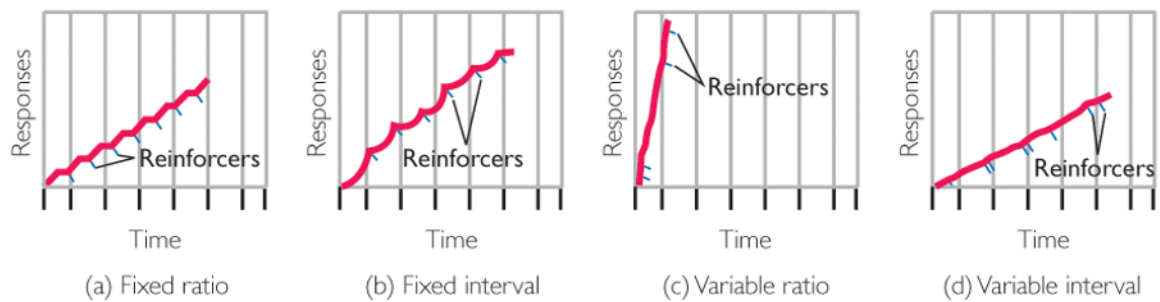


Figure 26 : Evolution du nombre total d'appuis au cours des 4 programmes de renforcement de ratio fixe (a), intervalle fixe (b), ratio variable (c) et intervalle variable (d).

Les 4 programmes de renforcement classiquement utilisés ne donnent pas les mêmes profils évolutifs. Les programmes en ratio favorisent de hautes performances, qui s'éteignent de façon abrupte. Les niveaux de performance sont plus modérés sous les programmes imposant un intervalle de temps. L'extinction suit une évolution en continu suite à un programme en intervalle variable.

Au-delà de patrons différents d'activité opérante, ces programmes de renforcement influent fortement sur la corrélation entre taux d'appuis et taux de récompenses. Dans un article désormais classique (Dickinson, 1985), Dickinson propose que les programmes en intervalle accélèrent la mise en place des habitudes (voir aussi Yin and Knowlton, 2006). Dans cette étude, cet auteur avait représenté les variations des taux d'appuis en fonction des taux de récompense **Figure 27**. Comme le montre cette figure, au début d'un entraînement effectué en intervalle, la corrélation entre taux d'appuis et taux de récompense est très importante. En effet, puisque l'animal appuie peu sur le levier, il expérimente très fortement la corrélation. Néanmoins, avec l'entraînement, la perception de cette corrélation diminue rapidement. Lorsque l'entraînement s'effectue selon un programme en ratio, la perception de la corrélation demeure forte plus longtemps puisque le taux de récompense dépend directement du taux d'appuis. Selon cette analyse, une réponse de type habitude apparaît lorsque l'animal atteint un taux d'activité important pour lequel les variations de la corrélation sont faibles.

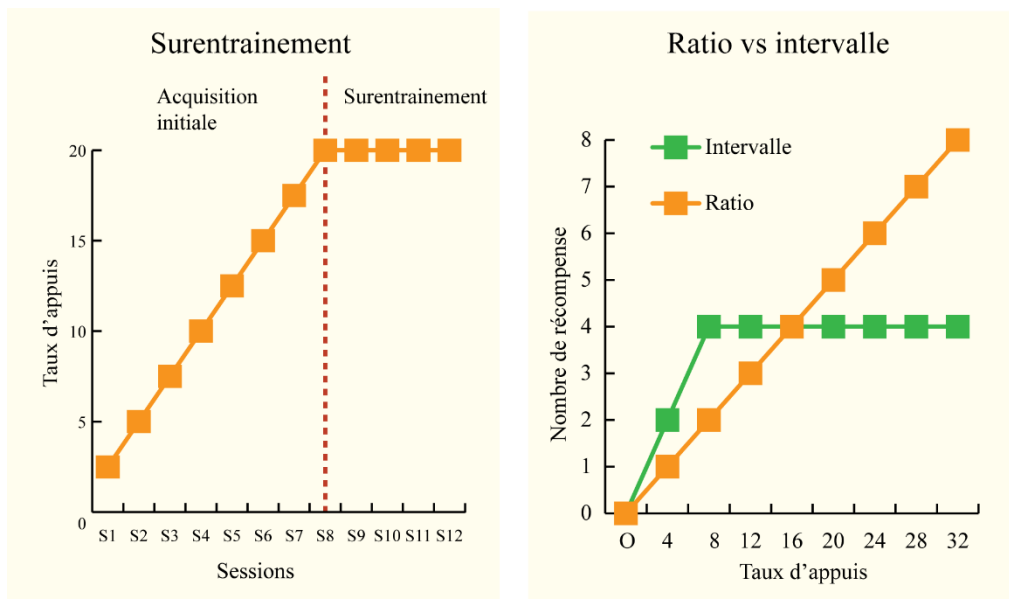


Figure 27 : Au début de l'entraînement en ratio fixe les taux d'appuis augmentent rapidement ainsi que les taux de récompenses. Néanmoins avec le surentraînement, il y a peu de variation dans le comportement et donc dans ses conséquences, une telle situation serait propice au développement d'habitude. Sous un programme en intervalle variable, le taux de récompense devient rapidement stable et n'évolue pas en fonction du taux de réponse. Un tel programme favoriserait le passage en mode habitude (Yin et Knwolton, 2006).

Bien qu'extrêmement séduisante, cette proposition n'a pas trouvé à l'heure actuelle de démonstration définitive, et des travaux systématiques sont requis. Dans une étude récente néanmoins, DeRusso et al. (Derusso et al., 2010) ont montré que l'incertitude liée aux intervalles variables d'un programme en VI pourrait constituer un facteur déterminant pour le contrôle comportemental.

b) Facteurs de l'environnement

Le rôle des facteurs environnementaux dans la sélection du mode de contrôle de la réponse est à l'heure actuelle largement méconnu. Néanmoins, une étude récente (Dias-Ferreira et al., 2009) a montré que le stress chronique favorisait l'expression des habitudes.

Par ailleurs, il semble que le contexte joue un rôle de premier plan dans les mécanismes de contrôle. Il pourrait intervenir à plusieurs niveaux. Premièrement, il pourrait jouer un rôle de signalement. C'est probablement une étude de Killcross et Coutureau (Killcross et Coutureau, 2003) qui illustre le mieux cette notion. Ces auteurs avaient entraîné de manière intensive une réponse dans un contexte et de manière modérée une autre réponse dans un autre contexte. Au moment du test, et après dévaluation, ces auteurs avaient observé que la réponse étaient de type habitude dans le contexte d'entraînement

intensif et de type action dirigée dans l'autre contexte. Deuxièmement, des données de la littérature suggèrent que le contexte de dévaluation joue un rôle important dans la sensibilité à la dévaluation (Yin et Knowlton, 2006), indiquant que le contexte est également intégré et représenté dans le cadre de l'action dirigée.

c) Codage de la valeur

Un nombre important d'études ont montré ces dernières années que les processus de récompense à la base de l'établissement de la valeur dépendent de la capacité du sujet à évaluer les propriétés affectives et motivationnelles du but (Balleine et Dickinson, 1992 ; Lopez, Balleine et Dickinson, 1992). Cette capacité est la résultante d'un apprentissage communément nommé apprentissage incitatif (Balleine et Dickinson, 1992). Par exemple, les rats ne modifient pas immédiatement leur choix de réponses associées avec une récompense plus (ou moins) calorique lorsque leur état de déprivation est augmenté (ou contraire diminué). Au contraire, ils modifient leurs réponses après avoir expérimenté directement la récompense dans ce nouvel état motivationnel (Balleine et Dickinson, 1992 ; Balleine, Davies et Dickinson, 1995). Ce type d'apprentissage incitatif est nécessaire à la performance d'une réponse dirigée qui constitue de fait une « force brute » par laquelle l'action est dirigée vers l'option avec la plus forte valeur (Niv, Joel et Dayan, 2006). Nous l'avons vu précédemment, ce type de processus est à l'œuvre dans les effets de dévaluation par satiété sensorielle (Balleine et Dickinson, 1998) ou aversion gustative mais il joue assurément un rôle de premier plan dans les effets de changements motivationnels dans des domaines variés allant des récompense sexuelles (Everitt et Stacey, 1987) ou alimentaires (Lopez, Balleine et Dickinson, 1992). S'il ne fait aucun doute que l'apprentissage incitatif joue un rôle dans l'ajustement des réponses dirigées, son rôle dans les habitudes est sujet à discussion (voir Dickinson et al., 1995).

d) Processus en retour (Feed-Back function)

Au-delà de l'aspect formel, les processus de choix résultant de l'initiation de la réponse activent un processus d'évaluation. De fait, la réponse active une représentation du résultat, qui elle-même peut influencer sur l'action ou la séquence d'action. Ces processus R-O/O-R sont actuellement considérés comme essentiels à l'adaptation de l'animal à son

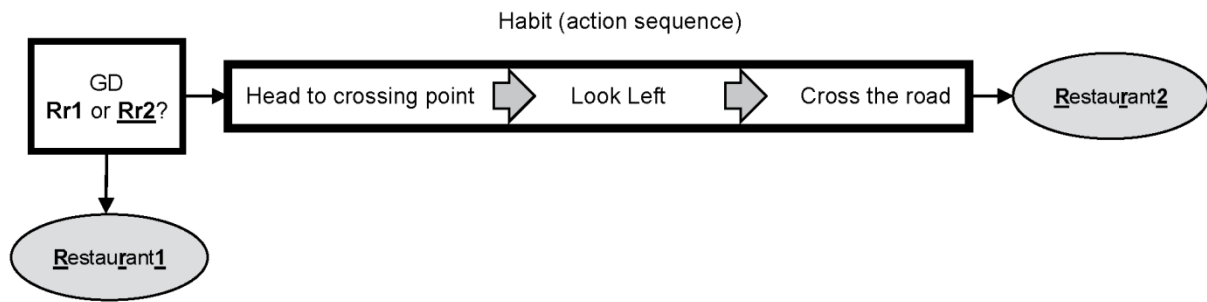
environnement (Balleine et O'Doherty, 2010). De plus, lorsque la récompense est physiquement présente (comme c'est le cas par exemple dans des tests de réacquisition où la récompense préalablement dévaluée est présentée à l'animal), ce processus en retour agit de manière instantanée pour influencer sur l'émission de la réponse (Adams, 1982 ; Killcross et Coutureau, 2003).

5) Théories actuelles : Parallèle, Séquentiel, Hiérarchique ?

En s'inspirant de la psychologie populaire, les premières propositions théoriques sur le contrôle de la réponse par les actions R-O ou les habitudes stipulaient une conception séquentielle : sous l'effet de l'entraînement, les habitudes remplaçaient progressivement les actions dirigées. Cette conception a été remise en question par un certain nombre de données récentes. D'abord des études lésionnelles qui ont montré l'acquisition de réponses habituelles dès le début de l'apprentissage (Corbit et Balleine, 2003 ; Killcross et Coutureau, 2003 ; Yin et al., 2005). Ensuite, il a été montré qu'il était possible de restaurer des actions dirigées vers un but alors qu'elles étaient habituelles (Coutureau et Killcross, 2003 ; Faure et al., 2005 ; Yin, Knowlton, et Balleine, 2006). L'ensemble de ces données a conduit à l'idée que ces deux systèmes fonctionneraient donc plutôt en parallèle, permettant à une action de passer de l'un à l'autre des systèmes en fonction des contraintes de l'environnement (Balleine et O'Doherty, 2010). Ce type de conception est à l'heure actuelle au cœur de nombreuses propositions en neurosciences computationnelles (composition de type « *model-based* », action dirigée *versus* « *model-free* » Daw, Niv, et Dayan, 2005).

Dernièrement, les théories d'architecture « hiérarchique » et « plate » ont supporté l'idée d'un passage bidirectionnel d'un système R-O vers un système S-R (Dezfouli et Balleine, 2013 ; Dezfouli, Lingawi et Balleine, 2014). Dans l'architecture hiérarchique (**Figure 28A**), les actions habituelles sont considérées comme un ensemble d'actions regroupées sous une même unité, et cet ensemble est sous le contrôle d'un système R-O. Selon le but recherché, le système R-O enclenchera alors la séquence d'actions habituelles nécessaire pour atteindre le but. Une fois la séquence d'actions effectuée, le contrôle revient au système R-O. A l'inverse, l'architecture plate (**Figure 28B**) propose quant à elle que le système R-O et le système S-R soient en compétition permanente lors de la réalisation d'une action, et c'est un « arbitre » qui décide quel système est enclenché à chaque action.

A) Hierarchical



B) Flat

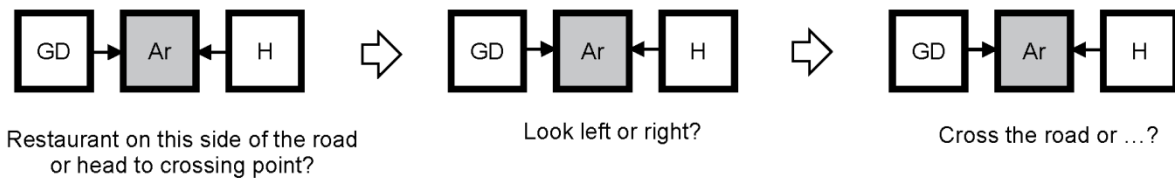


Figure 28 : Exemple des théories de l'architecture hiérarchique et plate dans le contrôle de l'action. Dans la théorie de l'architecture hiérarchique, le système R-O est activé lorsqu'il faut choisir entre deux restaurants à des localisations différentes, un sur la même rue, et l'autre accessible en traversant la rue. Selon le restaurant choisi par le système R-O, celui-ci enclenchera alors une séquence d'actions habituelles pour atteindre ce but, passant ainsi le contrôle au système S-R. Ainsi, si le restaurant choisi est celui de l'autre côté de la rue, le système R-O choisira d'enclencher la séquence d'action "regarder à gauche-regarder à droite-traverser la rue" sous le contrôle du système S-R. Une fois les actions effectuées, le contrôle revient au système R-O pour une autre décision. Dans le cas de l'architecture plate, un « arbitre » décide qui du système R-O ou S-R effectuera chaque action, que ce soit le choix entre le restaurant, regarder à droite ou à gauche, traverser la route ou attendre. Adapté de Dezfouli et Balleine, 2013.

Bien que l'existence de ces deux architectures soit encore discutée, il se dégage clairement l'idée d'un passage constant entre système R-O et système S-R, toujours dans l'idée d'optimiser au maximum le comportement, en automatisant certains comportements afin de libérer des ressources pour d'autres tâches cognitives. De ce point de vue, il apparaît que le passage d'un système à l'autre est un processus hautement adaptatif.

6) Interactions entre contingences pavloviennes et instrumentales

De toute évidence, l'animal est confronté constamment à des flux d'événements, et il peut paraître artificiel de séparer les contingences pavloviennes des contingences instrumentales. L'existence d'interactions entre ces deux types de liens associatifs est reconnue de longue date (Trapold et Overmier, 1972) et trouve sa démonstration dans des phénomènes telles que le transfert Pavlovien vers instrumental (Pavlovian to Instrumental Transfer, PIT **Figure 29A**), le renforcement conditionné ou encore des phénomènes plus

subtiles tels que le l'effet différentiel de la récompense (*Differential Outcome Effect*, DOE **Figure 29B**).

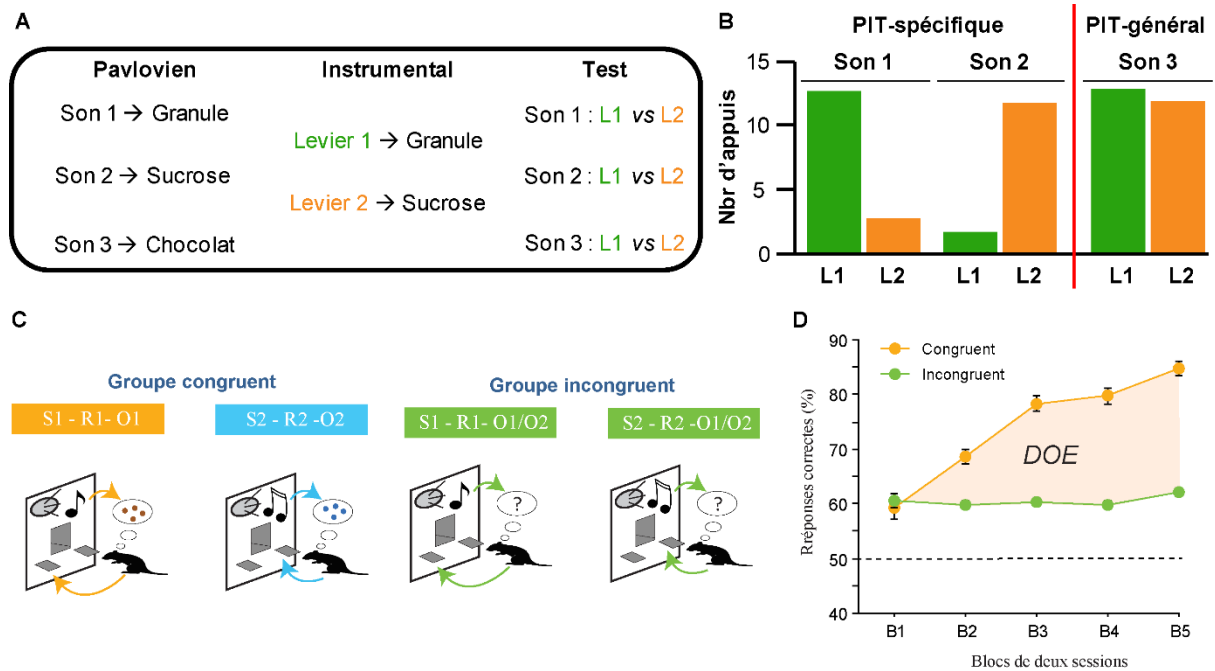


Figure 29 : (A, B) Principe du transfert pavlovien vers instrumental. Ce test se sous-divise en une procédure spécifique et générale, qui étudie l'effet excitateur spécifique versus général de la représentation de la récompense sur la sélection de l'action. La procédure spécifique consiste à associer dans un premiers temps deux stimuli avec deux récompenses différentes, puis deux actions différentes avec ces deux mêmes récompenses. Le test final présente successivement les deux stimuli. La présentation d'un stimulus déclenche une représentation spécifique de la récompense, qui va entrainer la sélection de l'action spécifiquement associée avec. La procédure générale consiste à associer un 3^{ème} stimulus avec une 3^{ème} récompense, puis à entrainer les animaux sur deux actions qui mènent à deux autres récompenses. Lors du test final, la présentation du 3^{ème} stimuli entraine une représentation de la 3^{ème} récompense, dont la représentation de la valeur provoque un effet excitateur général entrainant des taux d'appuis indiscriminés sur les deux leviers. (C, D) Discrimination conditionnelle et *Differential Outcome Effect*. Lorsque les animaux doivent encoder deux associations conditionnelles de types S-R, la performance des animaux est bien meilleur lorsqu'ils sont récompensés de façon spécifique pour chaque association (groupe congruent). L'interprétation classique est que les propriétés sensorielles de la récompense sont représentées et peuvent servir d'élément discriminatif supplémentaire pour faire le bon choix (Urcuioli, 2005 ; voir le dernier chapitre de la partie Contribution Expérimentale pour un développement complet de ce point).

En conclusion, le contrôle des actions pourrait dépendre à la fois de la valeur du but mais également de valeurs Pavloviennes attribuées aux stimuli de l'environnement (Balleine, Daw et O'Doherty, 2008 ; Colwill et Rescorla, 1988).

7) Synthèse

Le conditionnement instrumental se divise en 3 phases (**Figure 30**). Une première phase initiale commune permet l'acquisition des associations action-récompense. Les contingences instrumentales ainsi que la valeur de la récompense sont encodées. Ces deux composantes sont modifiées lors d'une deuxième phase spécifique. Ainsi, la valeur est altérée par une procédure de dévaluation par satiété, et les contingences par une procédure de dégradation. L'expression de ces changements est ensuite observée dans une troisième phase de test menée en extinction.

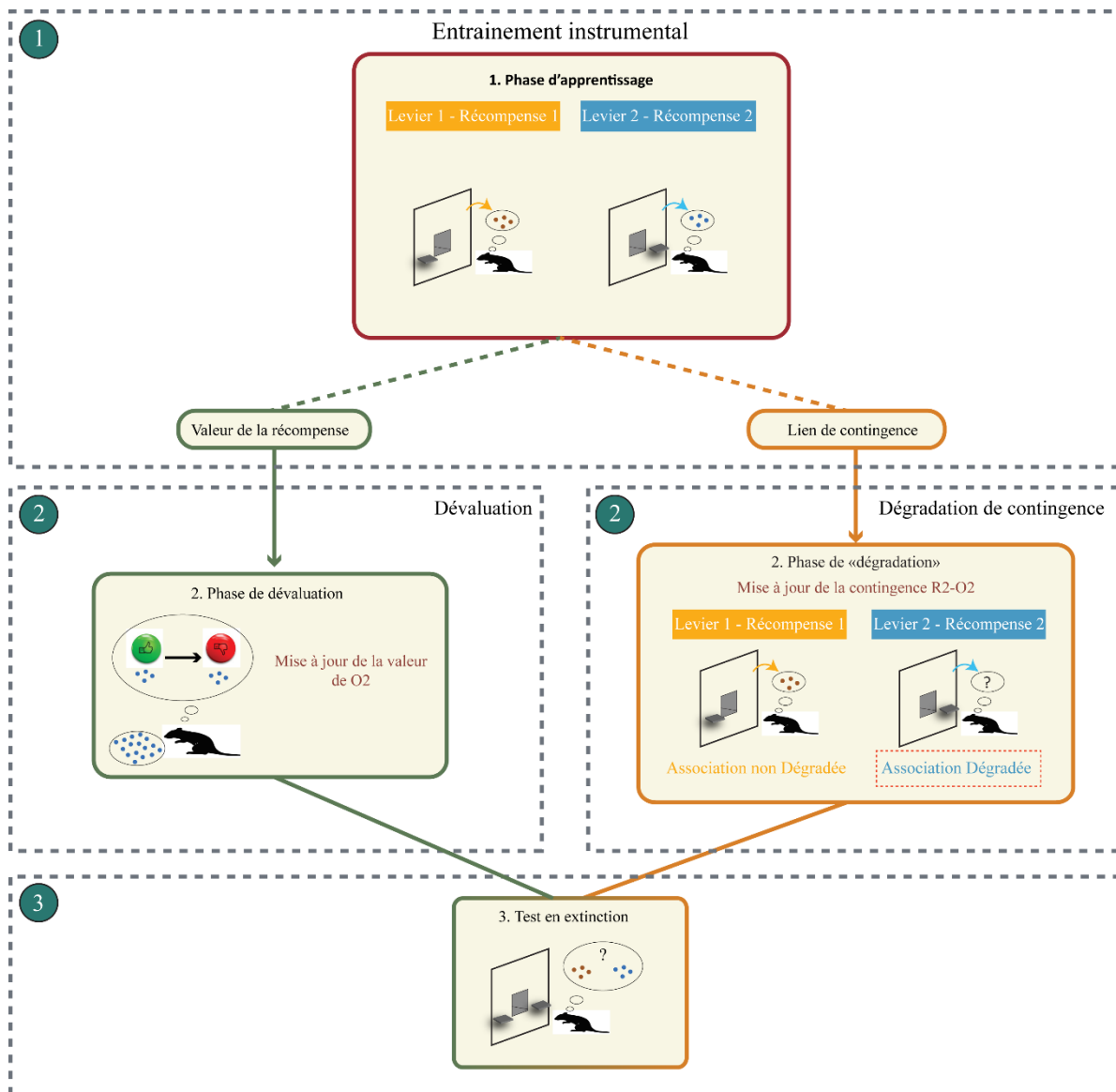


Figure 30 : Schémas des différents tests du contrôle de l'action. Chaque test permet d'étudier un aspect cognitif spécifique du contrôle de l'action.

8) Circuits neuronaux des actions et habitudes

Ces dernières années, l'étude des circuits neuronaux des actions et habitudes a fait l'objet d'un nombre considérable d'études (Balleine et O'Doherty, 2010 ; Hart, Leung et Balleine, 2014 ; Yin et Knowlton, 2006), qui ont mis en évidence l'implication de boucles cortico-striato-thalamo-corticales (**Figure 31**). Ces études ont dans leur grande majorité mis en œuvre des méthodes lésionnelles effectuées avant tout apprentissage. De fait, ces lésions sont susceptibles d'altérer tout ou partie des processus cognitifs à l'œuvre, à savoir : l'encodage des associations action-récompense (« *action-outcome* », A-O) durant l'entraînement, les changements de valeur ou de contingence, ou la récupération des informations liées à ces changements (**Tableau 2**).

a) Lésions pré-apprentissage et réponses dirigées vers un but

Régions préfrontales

Le cortex prélimbique joue un rôle crucial dans la réponse dirigée vers un but. En effet, des lésions excitotoxiques de cette région altèrent l'adaptation de l'animal à la fois à des changements de valeur et à des changements de contingence (Balleine et Dickinson, 1998 ; Corbit et Balleine, 2003 ; Coutureau, Marchand et Di Scala, 2009 ; Coutureau et al., 2012 ; Killcross et Coutureau, 2003 ; Naneix et al., 2009, 2012, 2013 ; Ostlund et Balleine, 2005). De manière intéressante, il a également été montré que des lésions de la partie gustative du cortex insulaire induisaient des déficits similaires (Balleine et Dickinson, 2000). Au sein du cortex préfrontal médian, le rôle du cortex prélimbique semble spécifique puisque des lésions soit de la partie infralimbique (Killcross et Coutureau, 2003), soit du cortex orbitofrontal sont sans effet sur le conditionnement opérant (Ostlund et Balleine, 2007b). Les données disponibles suggèrent néanmoins que des interactions étroites entre régions du cortex préfrontal jouent un rôle important dans la coordination des actions et des habitudes. En effet, dans des conditions d'entraînement intensif où la réponse est insensible à la dévaluation de la récompense et donc contrôlée par le système habitude, des lésions du cortex infralimbique (Killcross et Coutureau, 2003) ou des inactivations de cette région au moment du test (Coutureau et Killcross, 2003) restaurent la sensibilité à la dévaluation. Il semble que le système dopaminergique mésocortical intervienne dans le contrôle de l'action

dirigée vers un but. En effet, Hitchcott et collaborateur (Hitchcott, Quinn et Taylor, 2007) ont montré que l'injection de dopamine restaure également la sensibilité à la dévaluation. Par ailleurs, des données obtenues au laboratoire ont montré une dissociation remarquable entre représentation de la valeur et représentation de la contingence. En effet, des lésions sélectives (par injection intra-préfrontal de 6-OHDA) des terminaisons dopaminergiques du cortex prélimbique (Naneix et al., 2009, voir également Lex and Hauber, 2010b) altéraient la sensibilité des animaux à des changements de contingence mais pas à des changements de valeur.

Striatum

De manière parallèle, un ensemble important de données accumulées par le groupe de Balleine a montré que le contrôle de la réponse instrumentale dépendait du fonctionnement normal des territoires striataux (Yin et al., 2009). Ce groupe a ainsi montré que des lésions de la partie médiane du striatum entraînaient un déficit des actions dirigées vers un but tandis que l'intégrité de la partie dorsolatérale du striatum était requise dans la production d'une réponse de type habitude (Yin, Knowlton et Balleine, 2006). Enfin, Faure et collaborateurs (Faure et al., 2005) ont montré que des lésions des terminaisons dopaminergiques mésostriatales empêchaient la mise en place des habitudes. Les données concernant le striatum ventral sont moins abondantes. Néanmoins, Corbit et collaborateurs (Corbit, Muir et Balleine, 2001) ont montré que des lésions du *shell* du noyau accumbens modifiaient l'adaptation à des changements de valeur (voir également De Borchgrave et al., 2002 pour des résultats contradictoires). Bien que n'utilisant pas le cadre formel des apprentissages instrumentaux (Kelley, 2004 ; Lex et Hauber, 2010b) d'autres données suggèrent que le noyau accumbens joue un rôle déterminant durant les premières étapes de l'apprentissage

Thalamus

Le thalamus a été relativement peu étudié. Les noyaux thalamiques antérieurs ne sont pas impliqués dans le conditionnement instrumental (Corbit et Balleine, 2003), au contraire du thalamus médiodorsal dont la lésion abolit la sensibilité à la dévaluation de la récompense et à la dégradation de la contingence (Corbit, Muir et Balleine, 2003 ; Ostlund et Balleine, 2008b ; Pickens, 2008).

Régions temporales

Dans la littérature actuelle, l'effort principal a concerné l'étude des régions préfrontales et striatales. Néanmoins, les régions temporales doivent également être prises en compte. En effet, si des lésions totales de l'hippocampe sont sans effet sur la production des réponses instrumentales (Corbit et Balleine, 2000), il semble que des lésions du cortex entorhinal, qui constitue la voie d'entrée principale de l'hippocampe, altèrent l'adaptation à des changements de contingence (Corbit, Ostlund et Balleine, 2002 ; Lex et Hauber, 2010c). Par ailleurs, l'amygdale joue un rôle de premier plan, puisque des lésions de la partie basolatérale altèrent l'adaptation de la réponse à des changements de valeur (Balleine, Killcross et Dickinson, 2003 ; Blundell, Hall et Killcross, 2003 ; Corbit et Balleine, 2005 ; Coutureau, Marchand et Di Scala, 2009 ; Ostlund et Balleine, 2008b).

Neuromodulation

La coordination des actions et habitudes dépend également de l'histoire pharmacologique du sujet. En particulier, deux études ont montré que la sensibilisation du cerveau aux psychostimulants favorisait le contrôle de la réponse par le système habitude (Nelson et Killcross, 2006 ; Nordquist et al., 2007).

	Structure	Entraînement	Dévaluation	Test de dévaluation	Dégradation de contingence
Cortex Préfrontal	PL	Oui Balleine et Dickinson, 1998 Corbit et Balleine, 2003 Killcross et Coutureau, 2003 Coutureau et al., 2009 Tran-Tu-Yen et al., 2009 Lex et Hauber, 2010 (DA, oui)	Non Ostlund et Balleine, 2005	Non Ostlund et Balleine.,2005 Tran-Tu-Yen et al.,2009	? Balleine et Dickinson, 1998 Corbit et Balleine, 2003 Naneix et al, 2009 (DA,oui) Lex et Hauber, 2010 (DA, non)
	OFC	? Ostlund et Balleine, 2007 (non) Gremel et Costa, 2013 (oui)	? Ostlund et Balleine, 2007 (non)	? Ostlund et Balleine, 2007 (non) Gremel et Costa, 2013 (oui)	
	IC	?	Non Parkes et Balleine, 2013	Oui Balleine et Dickinson, 2000 Parkes et Balleine, 2013	Non Balleine et Dickinson 2000
Striatum	pDMS	Oui Yin et al., 2005a, 2005b Corbit et Janak, 2010 Shiflett et al., 2010	?	Oui Yin et al.,2005b Shiflett et al., 2010	Oui Yin et al, 2005b Lex et Hauber, 2010 (DA,oui)
	Nac	Oui Corbit et Balleine, 2001 De Borchgrave et al., 2002 Kelley et al., 1997, 2004	?	? Corbit et Balleine 2001, (oui) De Borchgrave et al., (non)	Non Corbit et Balleine, 2001
Structures temporales	EC	Non Corbit et al., 2000,2002 Lex et Hauber, 2010	Non Corbit et al., 2000,2002 Lex et Hauber, 2010	Non Corbit et al., 2000,2002 Lex et Hauber, 2010	Oui Corbit et al., 2000,2002 Lex et Hauber, 2010
	BLA	? Balleine et al., 2003 Coutureau et al., 2009	Oui Ostlund et Balleine, 2008 Johnson et al., 2009 West et al., 2012 Parkes et al.,2013	Non West et al., 2012 Parkes et al., 2013	? Balleine et al., 2003
Thalamus	Pf	Non Bradfield et al., 2013	Non Bradfield et al., 2013	Non Bradfield et al., 2013	Oui Bradfield et al., 2013
	MD	? Corbit et al., 2003 Ostlund et Balleine, 2008 Parnaudeau et al, 2014	Non Ostlund et Balleine, 2008	Non Ostlund et Balleine, 2008	Oui Corbit et Balleine, 2003 Parnaudeau et al., 2014

Tableau 2 : Récapitulatif de l'ensemble des structures impliquées dans les processus de dévaluation et de dégradation instrumentaux. Les marqueurs oui et non indiquent si cette structure gère l'aspect spécifique du conditionnement indiqué en titre de colonne. Les points d'interrogations correspondent à des données contradictoires, ou bien à des expériences pas assez spécifiques pour statuer définitivement sur le rôle de cette structure dans ce processus particulier. Les expériences consistant à supprimer l'innervation dopaminergique d'une structure contiennent DA après le nom de la publication. Enfin, les cases vides indiquent que les expériences n'ont pas été effectuées.

b) Encodage des associations A-O

Les études plus récentes, du fait du raffinement conceptuel et méthodologique, ont permis de caractériser le rôle de ces régions dans des aspects spécifiques du contrôle de l'action.

Il est apparu en particulier que l'implication du cortex prélimbique n'était que transitoire et ne concernait que l'encodage des associations A-O, puisque aussi bien son inactivation au moment du test (Tran-Tu-Yen et al., 2009) que sa lésion après l'apprentissage (Ostlund et Balleine, 2005) n'altéraient pas les actions dirigées vers un but. L'idée selon

laquelle le PL est indispensable durant les étapes précoces d'encodage du but est confortée par un ensemble de données électrophysiologiques obtenues aussi bien dans un contexte de conditionnement opérant (Mulder et al., 2003, Ito et al., 2003) que dans un contexte de représentations spatiales (Hirel et al., 2013 ; Hok et al., 2005 ; De Saint Blanquat et al., 2013). En particulier, ces études ont montré que les neurones du PL déchargeaient sélectivement lors des combinaisons action-récompenses contingentes. Ces réponses rapides et transitoires ont lieu au moment de l'appui (Burgos-Robles, Bravo-Rivera et Quirk, 2013) et diminuent avec l'apprentissage (Matsumoto et al., 2007).

L'encodage initial des associations A-O requiert également l'intégrité fonctionnelle du striatum dorsomédian. En effet, le blocage des récepteurs NMDA au moment de l'encodage est nécessaire pour l'acquisition de la réponse dirigée vers un but (Corbit et Janak, 2010 ; Yin, Knowlton et Balleine, 2005 ; Yin et al., 2005). Il semble également que des processus de plasticité précoce se mettent en place dans cette région cérébrale dès le début de l'apprentissage puisque une étude de Shiflett et Balleine (Shiflett et Balleine, 2011a, 2011b) ont montré des changements précoces des niveaux de la kinase ERK (extra cellular signal regulated kinase). De plus, des études récentes ont démontré dans cette région des changements synaptiques, du type potentialisation à long terme (Shan, Christie et Balleine, 2015). Le rôle des autres régions striatales est moins connu et est encore sujet à débat (Kelley, Smith-Roe et Holahan, 1997 ; Kelley, 2004).

Il est tout à fait vraisemblable que des interactions fonctionnelles entre l'étage frontal et l'étage striatal soient requises dès l'encodage initial des associations A-O. En effet, dans une étude non publiée à ce jour, il a été montré que des déconnexions entre cortex prélimbique et striatum dorsomédian induisent de profonds déficits de réponse dirigée vers un but (Poster « The goal-directed pathway : A bilateral corticostriatal pathway mediates the acquisition of goal directed actions », Hart et al., SFN 2015). Néanmoins, en mettant en œuvre des approches d'enregistrement multisite et multiunitaire chez la souris, d'autres travaux ont démontré que des interactions complexes étaient à l'œuvre entre cortex orbitofrontal et striatum dorsomédian (Gremel et Costa, 2013) dans le contrôle des actions et des habitudes, suggérant ainsi que différents aspects (contingence, aspects sensoriels de la récompense) pourraient être encodés par des circuits préfronto-striataux spécifiques.

Au sein de ces circuits, le rôle précis joué par l'étage thalamique n'est que peu connu. Comme nous l'avons signalé, la lésion préapprentissage du thalamus médiodorsal induit un

profond déficit dans les actions dirigées vers un but. De manière intéressante, à l'instar des lésions prélimbiques, des lésions post-apprentissages du MD n'ont aucun effet sur les actions dirigées vers un but (Ostlund et Balleine, 2008a). Cependant ces différents effets n'ont pas été reproduit dans une étude récente de pharmacogénétique chez la souris (Parnaudeau et al., 2015).

c) Encodage des changements durant la dévaluation ou la dégradation de contingence

A l'heure actuelle, peu de données sont disponibles sur la période de dévaluation. Les procédures de dévaluation les plus utilisées mettant en œuvre la satiété sensorielle, un temps court sépare la dévaluation du test, rendant impossible la dissociation entre processus liés aux changements de valeur et processus liés à l'utilisation de cette nouvelle valeur lors du test. Néanmoins, il est tout à fait vraisemblable que les changements de valeur instrumentale soient encodés au sein de l'amygdale basolatérale comme le suggèrent de nombreuses données mettant en œuvre des approches de pharmacologie et d'électrochimie (Malvaez et al., 2015 ; Wassum et Izquierdo, 2015 ; Wassum et al., 2009, 2011, 2012). De même, l'inactivation du BLA avant la dévaluation par satiété, induit de profonds déficits de réponse dirigée vers un but (Parkes et Balleine, 2013).

Pour ce qui concerne la dégradation de contingence, des données obtenues au laboratoire ont démontré que le signal dopaminergique parvenant au sein du cortex prélimbique joue un rôle déterminant dans l'acquisition des changements de contingence, puisque le blocage des récepteurs dopaminergiques dans cette région au moment de la dégradation induit de profonds déficits (Naneix et al., 2009). Ce résultat a d'ailleurs été conforté par l'observation qu'un système dopaminergique mésofrontal adulte est nécessaire à ces processus, puisque des rats adolescents ne sont pas capables de s'adapter à des changements de contingence (Naneix et al., 2012, 2013). Il est vraisemblable que des interactions complexes entre étage préfrontal et étage thalamique soient impliquées dans la mise à jour des contingences instrumentales, comme le suggère des études récentes concernant les noyaux parafasciculaire du thalamus (Bradfield, Hart et Balleine, 2013 ; Bradfield et al., 2013) et médiodorsal (Parnaudeau et al., 2015).

d) Utilisation des informations lors du test

Les données disponibles suggèrent que les traitements post-apprentissage que sont la dévaluation et la dégradation dépendent de circuits au moins partiellement distribués. En effet, à l'étage préfrontal, alors que l'inactivation du cortex prélimbique lors du test est sans effet (Tran-Tu-Yen et al., 2009), celle du cortex insulaire empêche les animaux de s'adapter à des changements de valeur (Parkes et Balleine, 2013), indiquant que cette région est nécessaire au recouvrement de la valeur pour guider le choix instrumental. De toute évidence, ce processus de recouvrement requiert des interactions complexes avec des régions de l'étage striatal et en particulier le *core* du noyau accumbens (Parkes, Bradfield et Balleine, 2015) ou le striatum dorsomédian (Shiflett et Balleine, 2010 ; Yin, Knowlton et Balleine, 2005).

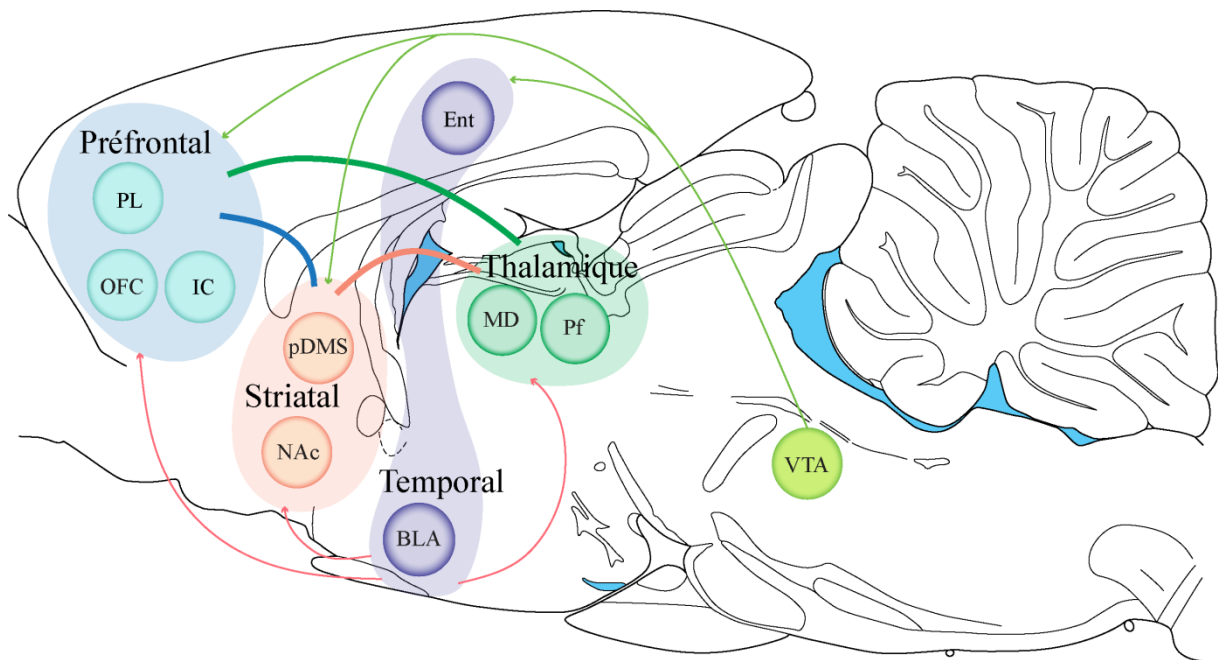


Figure 31 : Etages et structures impliqués dans les actions dirigées vers un but. Le schéma est centré autour des boucles préfronto-striato-thalamo-préfrontales, modulées par les structures temporales et dopaminergiques.

e) Habitudes

Les données disponibles dans la littérature actuelle indiquent que les circuits neuronaux des habitudes impliquent également des régions frontales, striatales et temporales (**Figure 32**).

En effet, dans des conditions d'entraînement intensif où la réponse est insensible à la dévaluation de la récompense, et donc contrôlée par le système habitude, des

lésions (Killcross et Coutureau, 2003), ainsi que des inactivations pharmacologiques (Coutureau et Killcross, 2003) ou optogénétiques (Smith et Graybiel, 2013 ; Smith et al., 2012) du cortex infralimbique restaurent la sensibilité à la dévaluation. Des résultats analogues ont aussi été obtenus à la suite de lésions du striatum dorsolatéral (Yin, Knowlton et Balleine, 2004), de la partie centrale de l'amygdale (Lingawi et Balleine, 2012) ou de leur déconnexion (Lingawi et Balleine, 2012).

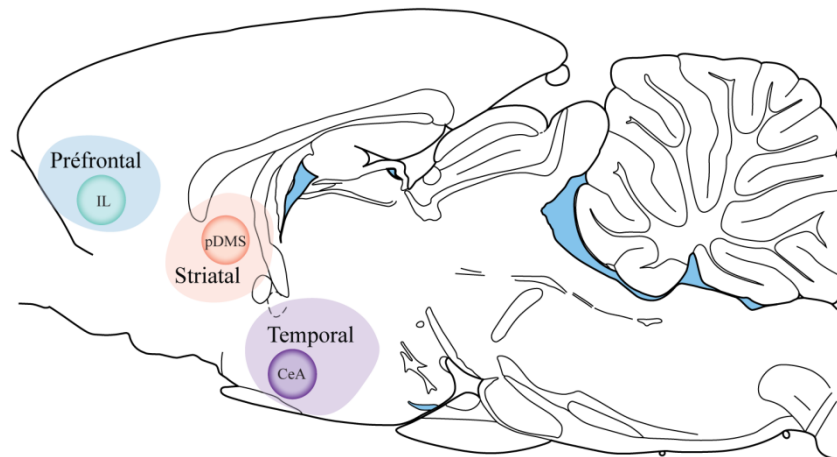


Figure 32 : Structures impliquées dans les actions habituelles.

f) Circuits des actions et habitudes chez l'Homme

Chez l'homme, les données concernant les circuits des actions et habitudes sont moins abondantes mais ont permis de décrire les zones cérébrales du traitement des récompenses (Daw et al., 2006 ; Haber et al., 2006 ; Hampton, Bossaerts et O'Doherty, 2006 ; O'Doherty et al., 2001 ; Tanaka et al., 2004). Néanmoins, en utilisant des tâches structurellement identiques à celles utilisées chez le rongeur, les données disponibles suggèrent une grande conservation des mécanismes neurobiologiques et comportementaux du contrôle comportemental. En effet, Valentin et al. (Valentin, Dickinson et O'Doherty, 2007) ont montré que chez des sujets préalablement entraînés à toucher un stimulus visuel pour obtenir une récompense alimentaire, la dévaluation de la récompense par satiété sélective entraînait une variation de l'activité au niveau de la partie médiane et centrale du cortex orbitofrontal. Des études récentes ont également mis en évidence l'activation de ces mêmes régions lors de l'adaptation à des changements de contingence (Gläscher, Hampton et O'Doherty, 2009 ; Tanaka, Balleine et O'Doherty, 2008). Les données d'imagerie disponibles à ce jour suggèrent que actions et habitudes pourraient, comme c'est le cas chez

le rongeur, solliciter des activations au sein de boucles cortico-striatales dissociées (Tricomi, Balleine et O'Doherty, 2009). Dans cette étude, Tricomi et collaborateurs ont fait varier le degré d'entraînement chez deux groupes de sujets selon des programmes de renforcement à intervalles variables. Conformément aux données obtenues chez le rongeur, la réponse du sujet n'est sensible à la dévaluation que dans des conditions d'entraînement modéré. De manière remarquable, le contrôle de la réponse par le système habitude coïncide avec l'augmentation de l'activité au sein du putamen postérieur et ventral (i.e. région latérale du striatum).

Pour résumer cet examen des circuits neuronaux supportant actions et habitudes, les conclusions principales sont les suivantes :

- 1- L'encodage initial des associations A-O requiert des interactions fonctionnelles entre l'étage frontal et striatal, au sein duquel des changements à long terme de plasticité ont lieu.
- 2- Les changements de valeur instrumentale ou de lien de contingence nécessitent respectivement des régions temporales (amygdale basolatérale) et corticales (cortex entorhinal et préfrontal), le système dopaminergique modulant fortement ces circuits probablement par l'intermédiaire d'un signal d'erreur
- 3- L'utilisation de ces changements pour guider le choix lors du test mobilise des régions préfrontales (cortex insulaire voir orbitofrontal) et striatales où sont probablement stockées les associations A-O
- 4- Dans ce cadre, le rôle des régions thalamiques semble nécessaire mais leur contribution spécifique peu évidente

OBJECTIFS

Les données accumulées ces dernières années indiquent que la prise de décision nécessite l'intégration d'un ensemble d'opérations cognitives élémentaires. Dans le cadre du corpus théorique et méthodologique des apprentissages associatifs, les circuits neuronaux de ces opérations commencent peu à peu à être identifiés. Il apparaît ainsi qu'au sein de ces circuits, les régions frontales et thalamiques jouent des rôles déterminants dans des opérations cognitives singulières en relation avec les mécanismes de prédiction des événements et de contrôle de l'action. De fait, la compréhension du fonctionnement de tels circuits nécessite de dépasser le niveau d'analyse correspondant aux structures, et donc de prendre en compte la complexité de l'architecture anatomique pour être en mesure d'en élucider les principes fonctionnels. Par conséquent, mon travail de thèse s'est articulé à partir des étapes suivantes :

Chapitre 1: En mettant en œuvre une approche lésionnelle classique, j'ai étudié la contribution du thalamus médiodorsal à la représentation de la valeur dans le cadre d'une procédure de décision spatiale complexe impliquant à la fois des contingences instrumentales et pavloviennes.

Chapitre 2: En mettant en œuvre des approches de traçage neuronale, nous avons étudié l'organisation topographique de multiples voies thalamocorticales issues du thalamus médiodorsal et innervant de façon différentielle diverses régions du cortex préfrontal

Chapitre 3: Ces observations nous ont notamment incité à préciser la direction des échanges d'informations au sein des circuits thalamocorticaux dans le contrôle de l'action en mettant en œuvre une approche pharmacogénétique conditionnelle permettant d'inhiber les éléments thalamiques et corticaux sur la base de leurs projections spécifiques.

Chapitre 4: Les observations d'architecture anatomiques nous ayant également révélé l'existence d'une afférence thalamique peu connue mais particulièrement dense (le thalamus submédian) du cortex orbitofrontal, nous avons contrasté le rôle de ces deux structures dans les processus adaptatifs reposant sur l'utilisation d'associations Pavloviennes afin d'éprouver leur appartenance à un même circuit fonctionnel.

CONTRIBUTION EXPERIMENTALE

Chapitre I : Thalamus médiodorsal et représentation du but

Comme nous l'avons vu lors de l'introduction, les études disponibles suggèrent que le thalamus médiodorsal pourrait être impliqué aussi bien dans les situations où les choix de l'animal sont guidés par des contingences instrumentales (Corbit, Muir et Balleine, 2003) que par des contingences Pavloviennes (Ostlund et Balleine, 2008a). Ainsi, si l'on considère de plus que cette région innerve l'ensemble du cortex préfrontal, il est possible que dans le cadre de l'action dirigée, la contribution du thalamus médiodorsal soit cruciale pour la représentation du but, y compris dans des situations complexes où l'ensemble de ces contingences peuvent influencer le choix.

Dans cette première étude, notre objectif est donc double. D'une part, nous avons mis en place une épreuve permettant d'étudier la représentation du but dans le cadre d'un apprentissage spatial, où l'animal a donc la possibilité d'attribuer une valeur spécifique aux emplacements spécifiques d'un labyrinthe en croix. D'autre part, nous nous sommes saisis de cette opportunité pour vérifier le caractère spécifique de la contribution fonctionnelle du thalamus médiodorsal, en comparant l'impact d'une lésion du thalamus médiodorsal avec celui de la lésion d'une région thalamique adjacente, les noyaux antérieurs, dont le rôle dans les processus spatiaux est bien établi (Aggleton et Nelson, 2015 ; Dalrymple-Alford et al., 2015 ; Jankowski et al., 2013).

Nos résultats montrent que les animaux issus des deux groupes lésionnels sont incapables de faire un choix adapté lorsque les deux bras du labyrinthe, préalablement associés à deux récompenses alimentaires différentes, leur sont proposés après une phase de dévaluation sensori-spécifique (la valeur de l'un des bras seulement est donc diminuée). Une deuxième épreuve de mémoire de travail spatiale effectuée dans le même dispositif nous a ensuite permis d'établir que la représentation du but est spécifiquement affectée chez les animaux MD tandis que les animaux porteurs d'une lésion du thalamus antérieur sont simplement incapables de s'orienter efficacement dans l'espace.

Pris dans leur ensemble, ces résultats permettent donc effectivement de dégager une contribution fondamentale et spécifique du thalamus médiodorsal dans les processus

supportant l'action dirigée vers un but. Cette première étude est publiée dans la revue *Brain, Structure and Function*.

Dissociable effects of anterior and mediodorsal thalamic lesions on spatial goal-directed behavior

Fabien Alcaraz · Fabien Naneix · Emilie Desfosses ·
Alain R. Marchand · Mathieu Wolff ·
Etienne Coutureau

Received: 11 April 2014 / Accepted: 19 September 2014
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Abstract Goal-directed behaviors are thought to be supported by a neural circuit encompassing the prefrontal cortex, the dorsomedial striatum, the amygdala, and, as more recently suggested, the limbic thalamus. Since evidence indicates that the various thalamic nuclei contribute to dissociable functions, we directly compared the functional contribution of the mediodorsal thalamus (MD) and of the anterior thalamic nuclei (ATN) in a new task assessing spatial goal-directed behavior in a cross-maze. Rats sustaining lesions of the mediodorsal or the anterior thalamus were trained to associate each of the two goal arms with a distinctive food reward. Unlike control rats, both lesioned groups failed to express a bias for the goal arm corresponding to the non-devalued outcome following devaluation by sensory-specific satiety. In addition, MD rats were slower than the other groups to complete the trials. When tested for spatial working memory using a standard non-matching-to-place procedure in the same apparatus, ATN rats were severely impaired but MD rats

performed as well as controls, even when spatial or temporal challenges were introduced. Finally, all groups displayed comparable breaking points in a progressive ratio test, indicating that the slower choice performance of MD rats did not result from motivational factors. Thus, a spatial task requiring the integration of instrumental and Pavlovian contingencies reveals a fundamental deficit of MD rats in adapting their choice according to goal value. By contrast, the deficit associated with anterior thalamic lesions appears to simply reflect the inability to process spatial information.

Keywords Limbic thalamus · Goal-directed action · Spatial memory · Outcome devaluation · Motivation · Rat

Introduction

To survive in a changing environment, organisms have to make responses adapted to the goal pursued. This requires the integration of events prediction and response control capabilities according to Pavlovian and instrumental contingencies, respectively (Balleine et al. 1994; Holmes et al. 2010). In both rodents and primates, including humans, instrumental conditioning can capture many of the basic cognitive mechanisms of goal-directed behavior through tests assessing the subjects' ability to adapt to change in goal value (Balleine and Dickinson 1998; Dickinson 1985; Tanaka et al. 2008; Valentin et al. 2007).

A number of recent studies in rodents have shed light on the network of cortical and subcortical structures underlying goal-directed actions. Indeed, lesions (or inactivation) of the dorsomedial striatum (Corbit and Janak 2010; Yin et al. 2005), the basolateral nucleus of the amygdala (Balleine et al. 2003; Coutureau et al. 2009; Parkes and

F. Alcaraz and F. Naneix contributed equally.
M. Wolff and E. Coutureau contributed equally as senior authors.

F. Alcaraz · F. Naneix · E. Desfosses · A. R. Marchand ·
M. Wolff · E. Coutureau
UMR 5287, INCIA, CNRS, 33076 Bordeaux, France

F. Alcaraz · F. Naneix · E. Desfosses · A. R. Marchand ·
M. Wolff (✉) · E. Coutureau (✉)
UMR 5287, Institut de Neurosciences Cognitives et Intégratives
d'Aquitaines (INCIA), CNRS/Université de Bordeaux,
Université de Bordeaux-Site Carreire, 146 rue Léo Saignat,
BP31, 33076 Bordeaux Cedex, France
e-mail: mathieu.wolff@u-bordeaux1.fr;
mathieu.wolff@u-bordeaux.fr

E. Coutureau
e-mail: etienne.coutureau@u-bordeaux.fr

Balleine 2013) or the prelimbic region (PLC) of the medial prefrontal cortex (Corbit and Balleine 2003; Killcross and Coutureau 2003; Ostlund and Balleine 2005; Tran-Tu-Yen et al. 2009), render subjects insensitive to outcome devaluation treatments. All the aforementioned brain areas share abundant connections with limbic thalamic nuclei (Gabbott et al. 2005; Groenewegen 1988; Hoover and Vertes 2007) such as the anterior thalamic nuclei (ATN) and medio-dorsal (MD) nuclei. While the ATN is known to support spatial navigation (Jankowski et al. 2013; van Groen and Kadish 2002; Warburton et al. 1999, 2001; Wilton et al. 2001; Wolff et al. 2008a, b), the role of MD in goal-directed behavior has been the focus of recent studies in essentially non-spatial, instrumental settings (Mitchell et al. 2007; Ostlund and Balleine 2008; Pickens 2008). Still few studies have directly compared the differential impact of lesion to either the ATN or the MD on goal-directed behavior and none of them involved processing of spatial information (Corbit et al. 2003).

The present study, therefore, aims at providing a more general understanding of the respective contributions of the ATN and the MD on goal-directed behaviors under conditions where subjects must use spatial information to guide behavior. To this end, we directly compare the performance of ATN and MD rats in a new goal-directed spatial task in a cross-maze which requires the use of the representation of goal value to guide spatial behavior (experiment 1), and show that control, but not lesioned rats avoid choosing an arm associated with a food reward when the corresponding food is devalued. We furthermore show that spatial working memory is impaired by ATN but not MD lesions in a reinforced spatial alternation procedure (experiment 2). We finally verify that the lesions do not alter motivation in an instrumental progressive ratio task.

Materials and methods

Animals and housing conditions

Thirty three male Long-Evans rats obtained from Centre d'Élevage Janvier (France) were used (weight 275–325 g at surgery). Rats were initially housed in pairs and accustomed to the laboratory facility for 2 weeks before the beginning of the experiments. The facility was maintained at 21 ± 1 °C with lights on from 7 a.m. to 7 p.m. and rats were tested only during the light portion of the cycle. The experimental protocols received approval # 5012035-A from the Ethics Committee on December 7, 2012, in accordance with current French (council directive 2013-118, February 1, 2013) and international (directive 2010-63, September 22, 2010, European Community) laws and policies regarding animal experiments.

Surgery

Rats were anesthetized with 4 % Isoflurane and placed in a stereotaxic frame with atraumatic ear bars (Kopf, Tujunga, CA) in a flat skull position. Anesthesia was maintained with 1.5–2 % Isoflurane complemented by subcutaneous administration of diazepam (0.2 ml of Valium[®] per rat) and Carprofen (Norocarp[®], 5 mg/kg). Neurotoxic ATN lesions were made using multiple NMDA micro-injections. 20 µg/µl NMDA (Sigma-Aldrich) in artificial cerebrospinal fluid (CMA Microdialysis AB, Solna, Sweden) was pressure injected into the brain through a glass micropipette (outside diameter: around 100 µm) and polyethylene tubing (Picospritzer, General Valve Corporation, Fairfield, NJ, USA). Two lesion sites per side were used: AP -1.4 mm from bregma, laterality ± 1.2 mm, ventrality -5.4 mm from dura; and AP -1.5 mm, laterality ± 1.5 mm and ventrality -5.3 mm. Each site was injected with 0.12 µl of NMDA. Neurotoxic MD lesions were made in the same fashion, with one lesion site per side at the following coordinates: AP: -3.1 ; L: ± 1.0 ; DV: -4.9 . Each site was injected with 0.18 µl of NMDA. In all cases, the pipette was left in place 3 min after injection before slow retraction. The Sham groups received similar surgery except that the micropipette was lowered only in the cortex and no injection was made (ventrality -2.0 mm). Rats were given at least 10 days of recovery before behavioral testing.

Experiment 1: goal-oriented spatial behavior

Behavioral apparatus

Experiment 1 was performed using a maze located in a room containing numerous distal cues. The maze was used in a T-maze configuration, embedded in a cross-maze raised 75 cm above the floor. The PVC runways were 13 cm wide and painted gray, with 5 cm-high transparent plastic edges. The two start arms were 100 cm long with a guillotine door located 15 cm from each end to create a North (N) and a South (S) start area. The two goal arms were 40 cm long, the end of which included a raised plastic food well (2.5 cm diameter, 1 cm deep). Guillotine doors (13 cm wide by 30 cm high) were used to restrict access to any arm. Diffuse lighting was provided by one overhead light.

Behavioral procedures

Habituation All rats were initially acclimated to the maze over four 20 min sessions during which they freely explored the maze with various configurations of open or closed doors and with food rewards available on all arms.

Training During this phase, the rats were trained to associate each arm of the maze with the retrieval of a distinctive food reward. Throughout training, the left goal arm was associated with grain pellets and the right goal arm with sucrose pellets as reward. Training proceeded over 2 days, two sessions each day, with one session taking place in the morning and the other in the afternoon. Each session was composed of ten forced-choice trials with the same goal arm–reward arrangement, the alternate arrangement being used on the other session of the same day. Trial began with the placement of the rat in the start arm. The door was then raised and the rat was allowed to enter one of the arms, the other being kept closed. Each trial ended when the rat had eaten the reward or when 2 min had elapsed. The animal was then returned in the start arm, and the following trial began.

Test following outcome devaluation by sensory-specific satiety The day following the last training session, the rats were tested after being sated on one of the food rewards. The animals were individually placed in one of eight Perspex cages (42 × 28 × 20 cm) located in a separate room. A glass dish (7.5 cm in diameter) containing food pellets could be fixed on the floor of each cage. During 1 h, the animals could freely consume 20 g of either grain or sucrose pellets (counterbalanced between rats and groups). Immediately after devaluation, the animals were placed in the start arm of the maze, the door was raised and the two goal arms were left open but contained no reward. Each trial ended when the rats entered one of the goal arms, or after 2 min elapsed. The rats were immediately placed in the start arm for a new trial. The test session comprised 5 trials.

Consumption test To ensure that devaluation was effective and sensory specific, a consumption test was conducted immediately after testing. The animals were transferred to the consumption cages and allowed access to 10 g of each of the two rewards successively (the order of the pre-fed and the non-pre-fed reward being counterbalanced across animals) for 15 min.

Experiment 2: spatial working memory

Behavioral apparatus

Experiment 2 was performed in the same apparatus as in Experiment 1.

Behavioral procedures

Acquisition Acquisition was conducted over 6 consecutive daily sessions of six trials. Each trial began with a

forced “sample” run in one of the two arms. Correct performance on the subsequent test run required the rat to choose the alternate arm from that previously visited during the sample run (i.e., both arms were now accessible).

To ensure that the rats were not simply using an ego-centric strategy (alternating body turn) from sample to test runs, a pseudorandom half of the trials used the opposite start area across the “sample” and “test” runs. The other half of the daily trials used the same start area. On the sample run, the rat was placed in the start area, the door raised and the rat allowed to enter the open arm, where it was confined for approximately 10 s while it ate a single food pellet. It was then picked up and returned to the appropriate start area. The door was then raised for the test run and the rat was allowed a free choice between the two maze arms. If the rat chose the previously blocked arm (non-matching alternation) it was rewarded with three food pellets, confined in that arm for about 10 s while it ate the reward and returned to the home cage. If the rat returned to the arm previously visited on the sample run it was confined to that arm for 10 s without reward and returned to the home cage. Each rat experienced a pseudorandom sequence of correct arm choices (left or right), start position for the sample run, and same versus opposite start position for the test run, which varied across rats and sessions.

After 6 days of acquisition, we evaluated the resistance of spatial working memory to temporal interferences. To this end, a 90 s delay was introduced between the sample and the test runs and performance was evaluated under these conditions for two consecutive days (12 trials in total).

Experiment 3: progressive ratio

Behavioral apparatus

Animals were trained in eight identical conditioning chambers (40 cm wide × 30 cm deep × 35 cm high, Imetronic, France), each located inside a sound and light-attenuating wooden chamber (74 × 46 × 50 cm). Each chamber had a ventilation fan producing a background noise of 55 dB and four LEDs on the ceiling for illumination of chamber. Each chamber had two opaque panels on the right and left sides, two clear Perspex walls on the back and front sides and a stainless steel grid floor (rod diameter: 0.5 cm; inter-rod distance: 1.5 cm). In the middle of the left wall, a magazine (6 × 4.5 × 4.5 cm) received food pellets (45 mg, F0165, Bio_Serv, NJ, USA) from a dispenser located outside the operant chamber. Each magazine was equipped with infra-red cells to detect the animal’s visits. A retractable lever (4 × 1 × 2 cm) could be inserted next to each of the magazines. A personal

computer connected to the operant chambers via an Imetronic interface and equipped with SKAA_PROG software (Imetronic, France) controlled the equipment and recorded the data.

Behavioral procedures

Magazine training Initially, all rats were trained for one 30 min session to collect the food pellet rewards which were delivered on a random time 60 s schedule.

Instrumental training All rats were then trained to press the lever to obtain a reward during four 30 min-long instrumental training sessions. The cage was illuminated and the lever inserted during the duration of the whole session. Different reinforcement schedules were used. The rats first received training for 2 days under a continuous reinforcement, fixed ratio 1 schedule (FR1, i.e., each lever press was rewarded) until they had earned 30 pellets or 30 min had elapsed. During the next two sessions, the animals were shifted to a fixed ratio 5 schedule (FR5, i.e., lever press was rewarded only following 5 consecutive lever presses).

Progressive ratio Following training under the FR5 schedule, rats were tested for motivation under a progressive ratio (PR) schedule. In this test, the number of lever presses required to earn each successive reward was incremented by steps of 3, starting at 1 (i.e., 1 press for the first reward, 4 presses for the second reward, 7, 10, 13, etc., for the next ones). Each reward was a single food pellet. The breaking point was defined as the last ratio completed before the effort required caused the animal to cease responding.

Histology

Animals received a lethal dose of sodium pentobarbital and were perfused transcardially with 150 ml of saline followed by 400 ml of 10 % formalin. The sections throughout the ATN and the MD regions were collected onto gelatine coated slides and dried before being stained with thionine. Histological analysis of the lesions was performed under the microscope by two experimenter (MW & FA) blind to lesion conditions.

Data analysis

The data were submitted to ANOVAs on StatView[®] software (SAS Institute Inc.) with Lesion (Sham/ATN/MD) and Devaluation (Devalued/Non-Devalued) as between subject factors and Trial type (Same start/Opposite start), Delay (no Delay/90 s), Session, Trial, or Time as repeated

measures when appropriate. The alpha value for rejection of the null hypothesis was 0.05 throughout.

Results

Histology

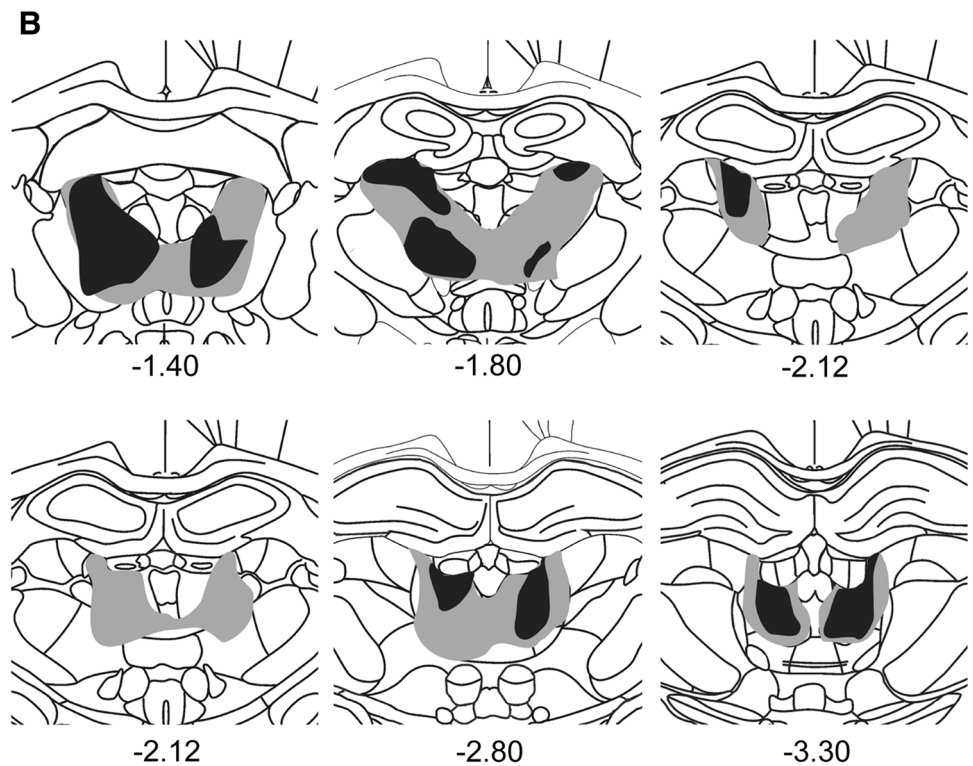
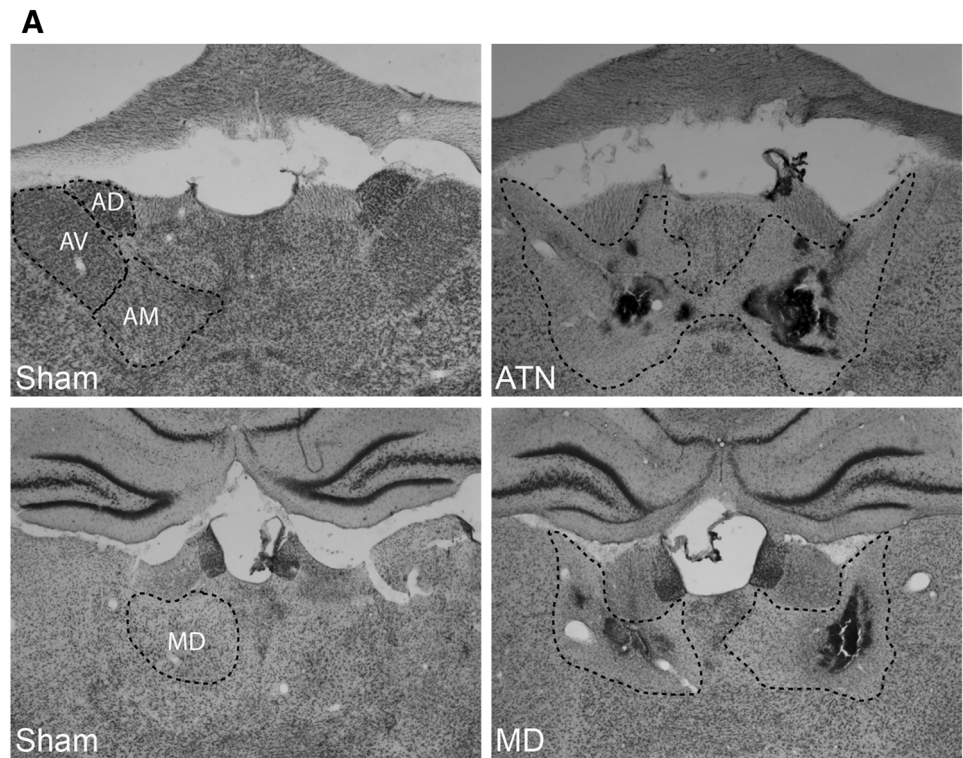
The ATN and MD lesions are shown in Fig. 1. Two ATN and three MD rats had only minimal damage and were discarded from further analysis. The ATN lesions were highly specific, comparable to previous work (Dupire et al. 2013; Marchand et al. 2013; Wolff et al. 2006, 2008a). Damage to other non-target thalamic structures including midline nuclei was generally minimal, with the exception of the inter-anteromedial nucleus, the centromedial and the parataenial nucleus; there was minor damage to the laterodorsal nucleus and negligible damage for paraventricular and posterior paraventricular nuclei, anterior paraventricular nucleus, reuniens nucleus, and rhomboid nuclei. In a few cases, minor damage was apparent in the most rostral portion of the MD. The thin glass micropipette caused no detectable mechanical injury to the fornix and hence the latter does not influence the behavioral profile of ATN rats reported here (see Fig. 1a). The MD lesions were deliberately performed slightly more posterior than usually in more conventional MD studies to avoid any damage to the ATN region. As a result, the most rostral portion of the MD was often spared by the lesion and the ATN was intact in all included MD rats. Substantial damage was, however, apparent at the level of the MD, including the lateral, the central, and the medial segments. Additional damage was apparent at the level of the intralaminar nuclei, more especially the centrolateral and the paracentral nuclei. Modest damage also occurred in the centromedian nuclei while it was negligible in the midline thalamic nuclei. A few cases exhibited minor damage to the ventral blade of the dentate gyrus but these animals behaved as the others from that group. Moreover, two rats (1 in group Sham and 1 in group ATN) had to be euthanized due to serious illness. The final groups were, therefore, as follows: Sham ($n = 9$); ATN ($n = 9$); MD ($n = 8$).

Experiment 1: goal-oriented spatial behavior

Training

During training, all rats learned to collect the reward at the end of the goal arm as indicated by the decreased latency across the two sessions of training. There was indeed a main effect of Session [$F(1,23) = 9.91$; $P = 0.045$] and no significant effect of Lesion [$F(2,23) = 2.52$; ns] or Session \times Lesion interaction [$F(2,23) < 1$; ns] was found.

Fig. 1 a Representative photomicrographs of the ATN (upper panels) and MD regions (lower panels) in Sham (left) and lesioned rats (right). Anterodorsal (AD), anteroventral (AV), and anteromedial (AM) damage is evident on this example (boundary of the lesion depicted by the dotted line) but the fornix is intact. **b** Representation of the included largest (gray) and smallest (black) ATN (upper panel) and MD (lower panel) at three different levels of the antero-posterior axis (indicated in mm relative to Bregma)

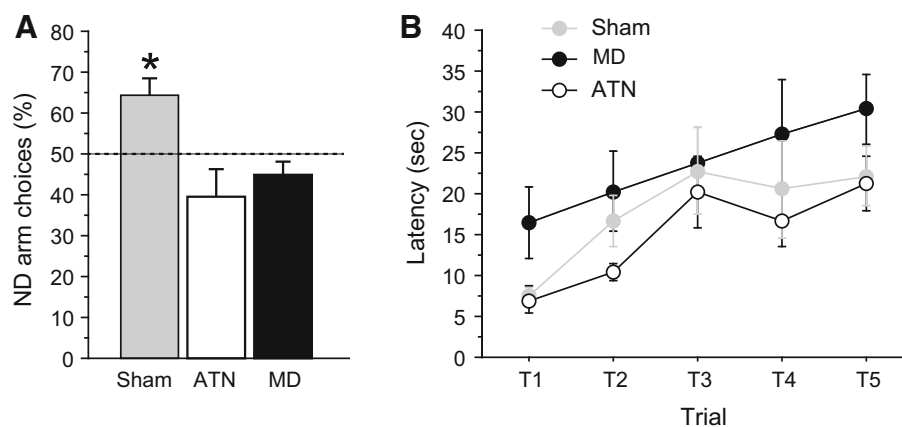


Test

Figure 2a shows the performance of the rats during the 5 trials, as a proportion of choice between the goal arm

associated with the devalued reward and the goal arm associated with the non-devalued reward. As shown, the results are clear for the Sham group since this group biased its choice toward the goal arm associated with the non-

Fig. 2 **a** Percent of visits in the arm associated with the non-devaluated reward. **b** Latency to reach the goal for the 5 trials of the spatial goal-directed test in the Sham (gray), ATN (white), and MD (black) group. Data are expressed as mean \pm SEM. * $P < 0.05$ versus the chance level (dotted line)



devalued reward, therefore demonstrating that satiety-induced devaluation was efficient in affecting choice performance during test. Such an effect was not present in both ATN and MD groups which both displayed a similar choice for the two goal arms, irrespective of devaluation. This description of the data was confirmed by an ANOVA showing a main effect of Lesion [$F(2,23) = 6.56$; $P = 0.006$]. In addition, the performance of Sham, but not ATN nor MD rats, was significantly above the 50 % chance level [$t(8) = 3.25$; $P = 0.011$, $t(8) < 1$; n.s. and $t(7) < 1$; n.s., respectively].

The altered performance in MD and ATN rats was associated with different latencies to reach the goal across the five trials of the test, as shown on Fig. 2b. The latencies increased throughout the test as confirmed by the statistical analysis which showed a main effect of Trial [$F(4,23) = 7.01$; $P < 0.001$]. More importantly, however, there was a main effect of Lesion [$F(2,23) = 3.67$; $P = 0.041$], but no Trial \times Lesion interaction [$F(8,23) < 1$; ns]. Separate analyses in the lesion groups showed that the MD rats were slower than the ATN rats to reach the goal [$P = 0.013$]. This distinctive behavior of MD rats is consistent with the notion that they have difficulties in choosing an arm on the basis of a representation of the outcome. However, it could also reflect an effect of the lesion on motivational control, which is assessed directly in Experiment 3.

Consumption test

The result of the consumption test confirmed that the pre-feeding treatment induced a specific satiety in all three groups (Table 1). All animals rejected the sated reward but consumed high quantities of the non-sated reward. The ANOVA shows a significant effect of the Devaluation factor [$F(1,23) = 6.97$; $P = 0.015$], but no significant effect of Lesion [$F(2,23) < 1$; ns] nor any significant Lesion \times Devaluation interaction [$F(2,23) < 1$; ns]. These

Table 1 Amount (in g) of non-devaluated (*N. dev.*) and devaluated (*Dev.*) rewards consumed during consumption tests for the ATN, MD, and Sham groups

	Sham	MD	ATN
N. dev.	1.84 \pm 0.82	1.93 \pm 0.48	1.9 \pm 0.45
Dev.	0.26 \pm 0.20	1.3 \pm 0.97	0.5 \pm 0.25

Data are expressed as mean \pm SEM

results confirm devaluation is effective in all groups and specific for one reward; i.e., groups differentiate correctly the non-devaluated from the devaluated reward.

Experiment 2: spatial working memory

Acquisition

Figure 3a shows the performance of the different groups during the acquisition phase of reinforced spatial alternation in the cross-maze. While both Sham and MD rats exhibited high levels of performance, ATN rats performed poorly without showing any sign of improvement throughout testing. These observations were confirmed by an ANOVA conducted on the performance with the factors Lesion (Sham, MD, ATN) and Time (3 blocks), indicating a highly significant effect of Lesion [$F(2,23) = 22.26$, $P < 0.001$] but not Time [$F(2,23) < 1$; ns] and no interaction [$F(2,23) < 1$; ns]. A post hoc Fisher analysis confirmed that ATN rats performed at lower levels than both Sham and MD rats (P s < 0.001), which did not differ from each other ($P = 0.56$).

To ensure that the spatial working memory task could not be solved by the sole use of an egocentric strategy, half of the trials began in the opposite start point for the choice run. These trials have previously been shown to be more challenging (Loukavenko et al. 2007). Figure 3b shows the overall performance of the three groups of rats during the acquisition period averaged as a function of trial type

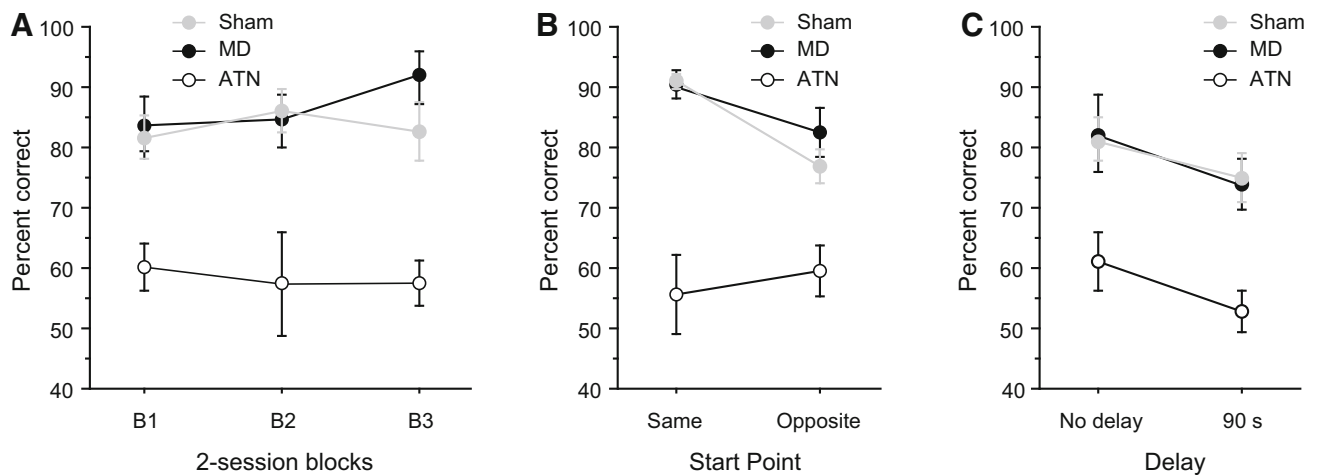


Fig. 3 **a** Percent of correct trials during the acquisition phase of the spatial working memory task (3 blocks of 2 sessions, 10 trials per session) for Sham (gray), ATN (white), and MD (black) groups. **b** Percent of correct trials when the starting point during the test run is

the same or the opposite than during the sample run. **c** Percent of correct trials for the two delay conditions. Data are expressed as mean \pm SEM

(same vs. opposite start). The performance of Sham and MD rats indeed appeared to be slightly decreased when facing the more challenging “opposite start” trials, but ATN rats performed poorly on both types of trial. The ANOVA conducted on these data with the factors Lesion (Sham, MD, ATN) and Trial Type (Same, Opposite) yielded highly significant effect of Lesion [$F(2,23) = 21.49$, $P < 0.001$] and Trial type [$F(1,23) = 7.44$, $P = 0.012$]. The post hoc Fisher analysis confirmed that ATN rats were impaired relative to both the Sham and MD groups (P s < 0.001), which did not differ from each other ($P = 0.64$). Furthermore, the significant Lesion \times Trial type interaction [$F(2,23) = 5.98$, $P = 0.008$] confirmed decreased performance in Sham [$F(1,8) = 16.79$, $P = 0.003$] but not in ATN rats [$F(1,8) < 1$; ns] when facing a spatial challenge, presumably because the performance of the latter group was already severely impaired even for the easier “same start” trials. MD rats exhibited a similar trend than Sham rats at this occasion [$F(1,7) = 4.30$, $P = 0.079$].

Delay

To confirm that spatial working memory was severely impaired by ATN but not MD lesions, we then assessed the resistance of such memory to temporal interferences. Figure 3c shows the overall performance of rats with and without a 90 s delay between the sample and the choice runs. As expected, the introduction of a delay produced an overall decrease in the performance of all rats. ATN rats continued to perform poorly even without delay. The ANOVA conducted on the performance with the factors Lesion (Sham, MD, ATN) and Delay (no delay, 90 s)

produced a highly significant effect of Lesion [$F(2,23) = 14.30$, $P < 0.001$] and Delay [$F(1,23) = 4.94$, $P = 0.036$] but no interaction [$F(2,23) < 1$; ns]. Again, post hoc analysis revealed considerably impaired performance in ATN versus both Sham ($P < 0.001$) and MD ($P < 0.001$) rats but could not differentiate the Sham and the MD groups ($P = 0.98$).

Taken together, these results indicate a major impairment in ATN but not MD rats. While ATN rats were near chance level throughout the entire period of testing and irrespective of testing conditions, MD rats performed consistently accurately and could not be distinguished from Sham rats even when facing a spatial challenge or temporal interferences.

Experiment 3: progressive ratio

Instrumental training

The three groups of animals acquired the instrumental response at the same rate, as shown on Fig. 4a. A mixed ANOVA with Session and Lesion as factors showed an effect of Session [$F(3,21) = 103.0$; $P < 0.001$], but no effect of Lesion [$F(2,21) < 1$; ns] nor any significant Lesion \times Session interaction [$F(2,21) = 0.91$; ns], indicating that lesions of the MD or the ATN had no effect on the acquisition of the instrumental response.

Progressive ratio

When the requirement to obtain a reward increases, the lever pressing rate decreases as shown on Fig. 4b. This decrease is similar in the three groups as demonstrated by

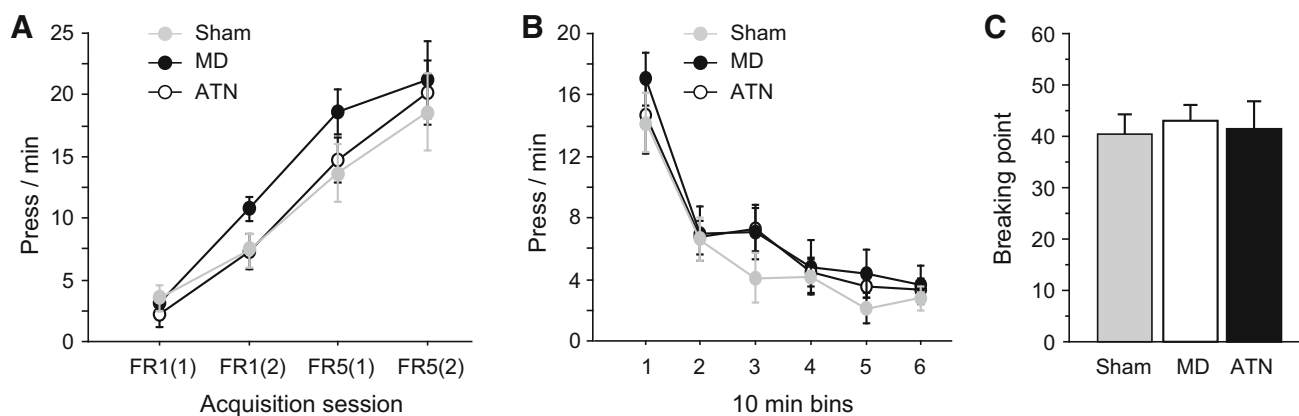


Fig. 4 **a** Mean number of lever presses during the fixed ratio 1 (FR1) and fixed ratio 5 (FR5) sessions of instrumental conditioning for Sham (gray), ATN (white), and MD (black) groups. **b** Mean number

of lever presses during the progressive ratio (PR) test represented in 10 min bins. **c** Breaking point reached during the PR test. Data are expressed as mean \pm SEM

an ANOVA which showed a significant effect of Time [$F(5,21) = 67.26$; $P < 0.001$] but no effect of Lesion [$F(2,21) < 1$; ns] or interaction between these two factors [$F(2,21) < 1$; ns].

A similar conclusion is also reached when considering at the breaking point which corresponds to the maximum of lever presses that the animals performed to obtain the reward. As shown on Fig. 4c, this measure showed no effect of Lesion [$F(2,21) < 1$; ns].

Discussion

The present study investigated the involvement of limbic thalamic nuclei in the control of spatial goal-directed behavior. The results demonstrate a clear dissociation between ATN and MD nuclei. Indeed, MD lesions were shown to abolish the sensitivity of spatial response to outcome devaluation without markedly impacting spatial memory, whereas ATN lesions were shown to affect spatial tasks indiscriminately. These results have important implications for our understanding of the neural circuit of goal-oriented behavior, which are discussed below.

The role of thalamic nuclei in goal representation

The results obtained in the Sham-operated group show that following sensory-specific satiety, the animals selectively decreased their entries in the arm which was previously associated with the devalued reward, which is consistent with previous findings (Babb and Crystal 2006; Smith et al. 2012). The associative structure involved in this task is probably the result of a mixture of both Pavlovian and instrumental contingencies. Such a response might reflect a change in approach behavior resulting from the encoding

of the Pavlovian relationship between the place and a specific reward (Hayen et al. 2014). However, this change in response control might also reflect the instrumental encoding of the relationship between the action (specific body turn in the maze)-outcome (A-O) association (Balleine and Dickinson 1998; Killcross and Coutureau 2003).

The failure of animals with lesions of the MD to show any sensitivity to devaluation is consistent with previous data, which used either pure instrumental (Corbit et al. 2003; Ostlund and Balleine 2008; Pickens 2008) or Pavlovian (Pickens 2008) setups, which all indicate that the MD plays a general role in the representation of outcome value, resulting from Pavlovian or instrumental contingencies. It must be noted that this deficit is unlikely to result from a deficit in discriminating the devalued vs. non-devalued rewards since MD rats behaved as the control Sham animals during the consumption test which followed devaluation. This deficit is also unlikely to be the result of general changes in the motivational control of action since MD rats displayed a similar breaking point as assessed in a progressive ratio procedure (see “Experiment 3”). These results may be integrated in the broader framework of neural circuits underlying response control. Indeed, previous research has demonstrated a major dissociation among prefrontal areas innervated by the MD (Groenewegen 1988; Hoover and Vertes 2007). This research has shown the medial prefrontal and the orbitofrontal cortex to be key elements of the circuit mediating the use of instrumental value (Corbit and Balleine 2003; Coutureau et al. 2009; Killcross and Coutureau 2003; Tran-Tu-Yen et al. 2009), and Pavlovian value (McDannald et al. 2014), respectively.

In our spatial goal-directed task ATN lesions appear to produce similar deficits as MD lesions. Given the available data, it is, however, unlikely that such an effect results from similar cognitive deficits. Indeed, previous findings

have demonstrated that ATN lesions did not impact the sensitivity to instrumental devaluation (Corbit et al. 2003). In addition, available data suggest that ATN rats, like Sham rats, are able to attribute a predictive value to both discrete and complex Pavlovian stimuli (Aggleton et al. 1996, 2011; Dupire et al. 2013; Ward-Robinson et al. 2002). The impact of ATN lesions on changing outcome value in a pure Pavlovian setup is, however, unknown and further studies are warranted. Nevertheless, since ATN rats are sensitive to devaluation in an instrumental setup (Corbit et al. 2003), the most parsimonious interpretation is that ATN deficits do not originate from an inability to use outcome value to guide behavior but rather from an initial failure of the place–reward encoding resulting from a major deficit in the encoding of spatial information.

The role of thalamic nuclei in spatial memory

Spatial working memory was assessed by a non-matching to place procedure known to be sensitive to hippocampal system damage (Aggleton et al. 2009; Warburton et al. 2000, 2001). In particular, the detrimental effect of ATN lesions on such spatial reinforced alternation is well documented (Aggleton et al. 2011; Warburton et al. 1997; Wilton et al. 2001). Furthermore, the use of a cross-maze enables to vary the start point from the sample to the test runs, which limits the efficacy of egocentric strategies and encourages the animals to use distal cues to guide behavior. Under these conditions, expected to particularly challenge hippocampal functions, the spatial impairment in ATN rats is known to be even more pronounced (Aggleton et al. 1996; Loukavenko et al. 2007; Ulrich et al. 2014). The present data fully confirmed this major deficit as ATN rats performed very poorly throughout all phases of testing without showing any sign of improvement. They actually performed so poorly that, contrary to Sham and MD rats, their performance did not degrade further when a delay was introduced between the sample and the test runs. By comparison, the performance of MD rats could not be distinguished from that of Sham rats. They achieved high level of performance even when confronted to spatial or temporal challenges. MD lesions were previously reported to spare performance in such non-matching to place procedure (Hunt and Aggleton 1998a; Hunt et al. 1994) but to our knowledge, this study is the first to provide a full and explicit comparison between the effects of both thalamic lesions. Our data, therefore, unequivocally indicate a role for the ATN but not the MD in spatial working memory. Interestingly, one study reported that MD lesions produced a deficit when rats were required to perform a matching to place procedure, which is contrary to the animals' innate preference to alternate (Hunt and Aggleton 1998b). However,

this impairment was not interpreted as a working memory deficit but as an increase in perseverative behavior, possibly retarding task acquisition.

Conclusion

Altogether, the present data, therefore, formally demonstrate the existence of a major functional dissociation within the limbic thalamus in the control of spatially guided goal-directed behavior. These results emphasize the crucial role of the MD in the representation of outcome value to guide behavior. Given that these thalamic nuclei share abundant anatomical connections with both frontal and temporal regions, which have also been involved in goal-directed behavior, it is of great importance to clarify the specific contribution of the MD. Indeed, given that this brain region has been largely involved in many psychiatric diseases, such as schizophrenia, animal studies can be expected to greatly enhance our understanding the neural circuit of goal-directed behavior, which rely upon homologous regions in rodents and higher primates (Balleine and O'Doherty 2010).

Acknowledgments This work was supported by the CNRS and the Conseil Régional d'Aquitaine. F. A. is supported by the Ministère de l'Enseignement Supérieur. We thank D. Panzeri, N. Argenta, and J. Huard for their help in animal care.

References

- Aggleton JP, Hunt PR, Nagle S, Neave N (1996) The effects of selective lesions within the anterior thalamic nuclei on spatial memory in the rat. *Behav Brain Res* 81:189–198
- Aggleton JP, Poirier GL, Aggleton HS, Vann SD, Pearce JM (2009) Lesions of the fornix and anterior thalamic nuclei dissociate different aspects of hippocampal-dependent spatial learning: implications for the neural basis of scene learning. *Behav Neurosci* 123:504–519. doi:10.1037/a0015404
- Aggleton JP, Amin E, Jenkins TA, Pearce JM, Robinson J (2011) Lesions in the anterior thalamic nuclei of rats do not disrupt acquisition of stimulus sequence learning. *Q J Exp Psychol (Hove)* 64:65–73. doi:10.1080/17470218.2010.495407
- Babb SJ, Crystal JD (2006) Episodic-like memory in the rat. *Curr Biol* 16:1317–1321. doi:10.1016/j.cub.2006.05.025
- Balleine BW, Dickinson A (1998) Goal-directed instrumental action: contingency and incentive learning and their cortical substrates. *Neuropharmacology* 37:407–419
- Balleine BW, O'Doherty JP (2010) Human and rodent homologies in action control: corticostriatal determinants of goal-directed and habitual action. *Neuropsychopharmacology* 35:48–69. doi:10.1038/npp.2009.131
- Balleine B, Ball J, Dickinson A (1994) Benzodiazepine-induced outcome reevaluation and the motivational control of instrumental action in rats. *Behav Neurosci* 108:573–589
- Balleine BW, Killcross AS, Dickinson A (2003) The effect of lesions of the basolateral amygdala on instrumental conditioning. *J Neurosci* 23:666–675

- Corbit LH, Balleine BW (2003) The role of prelimbic cortex in instrumental conditioning. *Behav Brain Res* 146:145–157
- Corbit LH, Janak PH (2010) Posterior dorsomedial striatum is critical for both selective instrumental and Pavlovian reward learning. *Eur J Neurosci* 31:1312–1321. doi:[10.1111/j.1460-9568.2010.07153.x](https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2010.07153.x)
- Corbit LH, Muir JL, Balleine BW (2003) Lesions of mediodorsal thalamus and anterior thalamic nuclei produce dissociable effects on instrumental conditioning in rats. *Eur J Neurosci* 18:1286–1294
- Coutureau E, Marchand AR, Di Scala G (2009) Goal-directed responding is sensitive to lesions to the prelimbic cortex or basolateral nucleus of the amygdala but not to their disconnection. *Behav Neurosci* 123:443–448. doi:[10.1037/a0014818](https://doi.org/10.1037/a0014818)
- Dickinson A (1985) Actions and habits: the development of behavioural autonomy. *Phil Trans R Soc Lond B* 308:67–78
- Dupire A, Kant P, Mons N, Marchand AR, Coutureau E, Dalrymple-Alford J, Wolff M (2013) A role for anterior thalamic nuclei in affective cognition: interaction with environmental conditions. *Hippocampus* 23:392–404. doi:[10.1002/hipo.22098](https://doi.org/10.1002/hipo.22098)
- Gabbott PL, Warner TA, Jays PR, Salway P, Busby SJ (2005) Prefrontal cortex in the rat: projections to subcortical autonomic, motor, and limbic centers. *J Comp Neurol* 492:145–177. doi:[10.1002/cne.20738](https://doi.org/10.1002/cne.20738)
- Groenewegen HJ (1988) Organization of the afferent connections of the mediodorsal thalamic nucleus in the rat, related to the mediodorsal-prefrontal topography. *Neuroscience* 24:379–431
- Hayen A, Meese-Tamuri S, Gates A, Ito R (2014) Opposing roles of prelimbic and infralimbic dopamine in conditioned cue and place preference. *Psychopharmacology*. doi:[10.1007/s00213-013-3414-0](https://doi.org/10.1007/s00213-013-3414-0)
- Holmes NM, Marchand AR, Coutureau E (2010) Pavlovian to instrumental transfer: a neurobehavioural perspective. *Neurosci Biobehav Rev* 34:1277–1295. doi:[10.1016/j.neubiorev.2010.03.007](https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2010.03.007)
- Hoover WB, Vertes RP (2007) Anatomical analysis of afferent projections to the medial prefrontal cortex in the rat. *Brain Struct Funct* 212:149–179. doi:[10.1007/s00429-007-0150-4](https://doi.org/10.1007/s00429-007-0150-4)
- Hunt PR, Aggleton JP (1998a) An examination of the spatial working memory deficit following neurotoxic medial dorsal thalamic lesions in rats. *Behav Brain Res* 97:129–141
- Hunt PR, Aggleton JP (1998b) Neurotoxic lesions of the dorsomedial thalamus impair the acquisition but not the performance of delayed matching to place by rats: a deficit in shifting response rules. *J Neurosci* 18:10045–10052
- Hunt PR, Neave N, Shaw C, Aggleton JP (1994) The effects of lesions to the fornix and dorsomedial thalamus on concurrent discrimination learning by rats. *Behav Brain Res* 62:195–205
- Jankowski MM et al (2013) The anterior thalamus provides a subcortical circuit supporting memory and spatial navigation. *Front Syst Neurosci* 7:45. doi:[10.3389/fnsys.2013.00045](https://doi.org/10.3389/fnsys.2013.00045)
- Killcross S, Coutureau E (2003) Coordination of actions and habits in the medial prefrontal cortex of rats. *Cereb Cortex* 13:400–408
- Loukavenko EA, Ottley MC, Moran JP, Wolff M, Dalrymple-Alford JC (2007) Towards therapy to relieve memory impairment after anterior thalamic lesions: improved spatial working memory after immediate and delayed postoperative enrichment. *Eur J Neurosci* 26:3267–3276. doi:[10.1111/j.1460-9568.2007.05879.x](https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2007.05879.x)
- Marchand A, Faugere A, Coutureau E, Wolff M (2013) A role for anterior thalamic nuclei in contextual fear memory. *Brain Struct Funct* 219 (5):1575–1586. doi:[10.1007/s00429-013-0586-7](https://doi.org/10.1007/s00429-013-0586-7)
- McDannald MA, Jones JL, Takahashi YK, Schoenbaum G (2014) Learning theory: a driving force in understanding orbitofrontal function. *Neurobiol Learn Mem* 108:22–27. doi:[10.1016/j.nlm.2013.06.003](https://doi.org/10.1016/j.nlm.2013.06.003)
- Mitchell AS, Browning PG, Baxter MG (2007) Neurotoxic lesions of the medial mediodorsal nucleus of the thalamus disrupt reinforcer devaluation effects in rhesus monkeys. *J Neurosci* 27:11289–11295. doi:[10.1523/JNEUROSCI.1914-07.2007](https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1914-07.2007)
- Ostlund SB, Balleine BW (2005) Lesions of medial prefrontal cortex disrupt the acquisition but not the expression of goal-directed learning. *J Neurosci* 25:7763–7770. doi:[10.1523/JNEUROSCI.1921-05.2005](https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1921-05.2005)
- Ostlund SB, Balleine BW (2008) Differential involvement of the basolateral amygdala and mediodorsal thalamus in instrumental action selection. *J Neurosci* 28:4398–4405. doi:[10.1523/JNEUROSCI.5472-07.2008](https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5472-07.2008)
- Parkes SL, Balleine BW (2013) Incentive memory: evidence the basolateral amygdala encodes and the insular cortex retrieves outcome values to guide choice between goal-directed actions. *J Neurosci* 33:8753–8763. doi:[10.1523/JNEUROSCI.5071-12.2013](https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5071-12.2013)
- Pickens CL (2008) A limited role for mediodorsal thalamus in devaluation tasks. *Behav Neurosci* 122:659–676. doi:[10.1037/0735-7044.122.3.659](https://doi.org/10.1037/0735-7044.122.3.659)
- Smith KS, Virkud A, Deisseroth K, Graybiel AM (2012) Reversible online control of habitual behavior by optogenetic perturbation of medial prefrontal cortex. *Proc Natl Acad Sci USA* 109:18932–18937. doi:[10.1073/pnas.1216264109](https://doi.org/10.1073/pnas.1216264109)
- Tanaka SC, Balleine BW, O'Doherty JP (2008) Calculating consequences: brain systems that encode the causal effects of actions. *J Neurosci* 28:6750–6755. doi:[10.1523/JNEUROSCI.1808-08.2008](https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1808-08.2008)
- Tran-Tu-Yen DA, Marchand AR, Pape JR, Di Scala G, Coutureau E (2009) Transient role of the rat prelimbic cortex in goal-directed behaviour. *Eur J Neurosci* 30:464–471. doi:[10.1111/j.1460-9568.2009.06834.x](https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2009.06834.x)
- Ulrich K, Aitken PN, Abraham WC, Dalrymple-Alford JC, McNaughton N (2014) Effects of thalamic lesions on repeated relearning of a spatial working memory task. *Behav Brain Res* 261:56–59. doi:[10.1016/j.bbr.2013.12.002](https://doi.org/10.1016/j.bbr.2013.12.002)
- Valentin VV, Dickinson A, O'Doherty JP (2007) Determining the neural substrates of goal-directed learning in the human brain. *J Neurosci* 27:4019–4026. doi:[10.1523/JNEUROSCI.0564-07.2007](https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0564-07.2007)
- van Groen T, Kadish I, Michael Wyss J (2002) Role of the anterodorsal and anteroventral nuclei of the thalamus in spatial memory in the rat. *Behav Brain Res* 132:19–28
- Warburton EC, Baird AL, Aggleton JP (1997) Assessing the magnitude of the allocentric spatial deficit associated with complete loss of the anterior thalamic nuclei in rats. *Behav Brain Res* 87:223–232
- Warburton EC, Morgan A, Baird AL, Muir JL, Aggleton JP (1999) Does pretraining spare the spatial deficit associated with anterior thalamic damage in rats? *Behav Neurosci* 113:956–967
- Warburton EC, Baird AL, Morgan A, Muir JL, Aggleton JP (2000) Disconnecting hippocampal projections to the anterior thalamus produces deficits on tests of spatial memory in rats. *Eur J Neurosci* 12:1714–1726
- Warburton EC, Baird A, Morgan A, Muir JL, Aggleton JP (2001) The conjoint importance of the hippocampus and anterior thalamic nuclei for allocentric spatial learning: evidence from a disconnection study in the rat. *J Neurosci* 21:7323–7330
- Ward-Robinson J, Wilton LA, Muir JL, Honey RC, Vann SD, Aggleton JP (2002) Sensory preconditioning in rats with lesions of the anterior thalamic nuclei: evidence for intact nonspatial 'relational' processing. *Behav Brain Res* 133:125–133
- Wilton LA, Baird AL, Muir JL, Honey RC, Aggleton JP (2001) Loss of the thalamic nuclei for "head direction" impairs performance on spatial memory tasks in rats. *Behav Neurosci* 115:861–869

- Wolff M, Gibb SJ, Dalrymple-Alford JC (2006) Beyond spatial memory: the anterior thalamus and memory for the temporal order of a sequence of odor cues. *J Neurosci* 26:2907–2913
- Wolff M, Gibb SJ, Cassel JC, Dalrymple-Alford JC (2008a) Anterior but not intralaminar thalamic nuclei support allocentric spatial memory. *Neurobiol Learn Mem* 90:71–80. doi:[10.1016/j.nlm.2008.01.007](https://doi.org/10.1016/j.nlm.2008.01.007)
- Wolff M, Loukavenko EA, Will BE, Dalrymple-Alford JC (2008b) The extended hippocampal-diencephalic memory system: enriched housing promotes recovery of the flexible use of spatial representations after anterior thalamic lesions. *Hippocampus* 18:996–1007. doi:[10.1002/hipo.20457](https://doi.org/10.1002/hipo.20457)
- Yin HH, Ostlund SB, Knowlton BJ, Balleine BW (2005) The role of the dorsomedial striatum in instrumental conditioning. *Eur J Neurosci* 22:513–523. doi:[10.1111/j.1460-9568.2005.04218.x](https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2005.04218.x)

Chapitre II : Architecture des voies thalamocorticales

issues du thalamus médiadorsal

Afin d'appréhender la connectivité fonctionnelle entre le cortex préfrontal et le thalamus médiadorsal, il est d'abord nécessaire d'observer finement le détail de l'architecture des projections thalamocorticales issues du thalamus médiadorsal. Le cœur de ce travail est présenté sous la forme d'un manuscrit (**Manuscrit 1**), soumis à la revue *European Journal of Neuroscience* et actuellement en révision. Nous proposons en introduction de ce manuscrit une description pas à pas de la démarche méthodologique que nous avons entreprise à cette occasion.

I) Méthode d'étude des voies anatomiques

Les méthodes classiques pour décrire la connectivité entre différentes régions cérébrales reposent sur l'utilisation de traceurs neuronaux, qui peuvent être capturés par les terminaisons ou les corps cellulaires pour migrer selon des tropismes respectivement antérograde ou rétrograde. Dans le cas du thalamus médiadorsal, plusieurs études ont déjà fait état de l'existence de multiples voies thalamocorticales issues de cette région (Groenewegen, 1988 ; Mátyás et al., 2014). Par conséquent, nous privilégions l'emploi de traceurs rétrogrades injectés au niveau cortical afin de nous concentrer exclusivement sur le marquage de corps cellulaires, qui permettent avec certitude d'évaluer le caractère rétrograde de ce marquage. En effet, l'ensemble des traceurs disponibles présentent le plus souvent une activité mixte, à la fois antérograde et rétrograde (Reiner et Honig, 2006 ; Schmued, Kyriakidis et Heimer, 1990 ; Vercelli et al., 2000) et l'examen des fibres ne permet pas d'identifier ces activités avec certitude. Ensuite, le travail entrepris visant spécifiquement à déterminer si plusieurs voies thalamocorticales issues du thalamus médiadorsal pourraient provenir de groupes de cellules thalamiques différentes, susceptibles donc de supporter des fonctions dissociables, nous chercherons à comparer directement le marquage résultant de l'injection du traceurs dans différentes régions du cortex préfrontal, chez les mêmes animaux. Ceci impose donc le choix de traceurs fluorescents. Au vu de nos contraintes et des propriétés des principaux traceurs rétrogrades

disponibles, résumés sur le Tableau 3, nous avons opté pour des dextrans. Ces traceurs sont en effet disponibles en différentes versions correspondant au couplage avec des fluorochromes différents (la fluorescéine, vert ou la tétraméthylrhodamine, rouge) ce qui nous permet donc de bénéficier de traceurs différenciés mais partageant les mêmes caractéristiques moléculaires (Choi, Li et Raisman, 2002 ; Novikova, Novikov et Kellerth, 1997). Le poids moléculaire du dextran ainsi que son pH influent directement sur le tropisme migratoire du dextran et il a été rapporté qu'un poids moléculaire plus faible était associé à un tropisme préférentiellement rétrograde, particulièrement en milieu acide (Kaneko et al., 1996 ; Reiner et Honig, 2006). Au vu de ces informations, la première étape de ce travail a donc consisté à déterminer les conditions optimales pour le traçage des voies thalamocorticales avec des dextrans, en évaluant directement l'impact du poids moléculaire et en amplifiant le signal obtenu par des techniques d'immunohistochimie.

	CTB	FE/FR	FG	FB	Billes	
temps de migration	3-4 jours	10-15 jours	5-7 jours	5-7 jours	2 jours	
Injection	I, P	P	I, P	I	P	
Qualité du marquage	Soma	+++	+++	+++	+++	++
	Dendrites	+++	+	++	+++	+/-
	Axones	+++	+++	+++	+++	-
Capture	Fibres de passage	+	+	+	+	-
	Glie	+	++	+	+	-

Tableau 3 : récapitulatif des traceurs fluorescents rétrogrades. Adapté de Vercelli et al., 2000. Méthode d'injection : P = pression et I = iontophorèse. CTB = Cholera toxin B ; FE/FR = FluoroEmerald/Fluororuby ; FG = Fluorogold ; FB = Fast Blue

1) Injection simple de traceur rétrograde

Préparation du Dextran

Dans tous cas, les dextrans sont dilués à 4% dans un tampon citrate au pH 3, conformément à ce qui est suggéré dans la littérature (Kaneko et al., 1996). Ce tampon est composé de 46,5% d'acide citrique à 0.1M, de 3,5 % de citrate de sodium à 0.1M et 50% d'eau distillée et permet donc de favoriser un transport rétrograde du dextran.

Animaux et chirurgie

Des rats Long Evans mâle de 275-300g sont utilisés pour ces expériences. Les dextrans couplés respectivement à la fluorescéine (« Fluoroemerald ») et à la tétraméthylrhodamine (« Fluororuby ») sont évalués par des injections systématiques au niveau du cortex orbitofrontal. Les rats sont anesthésiés avec 4% d'isoflurane et placés sur un cadre stéréotaxique avec des barres d'oreilles atraumatiques (Kopf, Tujunga, CA), le crâne à l'horizontal. L'anesthésie est maintenue à 1,5-2%, et supplémentée par une injection sous-cutanée de Buprénorphine (Buprecare ©, 0,05 mg/kg).

Les dextrans sont aspirés avant injection par une micropipette en verre qui est délicatement insérée dans le cerveau de l'animal. Les dextrans sont injectés par pression (Picrospritzer), réglé de façon à injecter des volumes de 30nl à chaque injection. Les injections sont espacées de 10 secondes, tout ceci dans le but d'éviter des lésions cérébrales par une pression physique trop forte. Le volume total d'injection est de 0,3 µl. Les coordonnées d'injection dans le segment latéral du cortex orbitofrontal sont : AP +3.7 mm à partir du bregma, latéralité : ±2.6 mm, DV : -5.0 mm.

a) Révélation du dextran – Comparaison 3kDa vs 10kDa

Une semaine après la chirurgie, les rats sont sacrifiés avec une dose létale de pentobarbitone sodique. Ils sont perfusés par le cœur avec 50ml de sodium suivi de 200ml de paraformaldéhyde (PFA) 4%. Après une nuit dans un bain de PFA, les cerveaux sont coupés au vibratome à une épaisseur de 40µm.

Une première série de tranche est ensuite contre-colorée avec une solution de Hoeschst diluée au 1/5000 dans un tampon phosphate (PB) 0.1M, suivant un bain de 15 min. Après 4

rinçage de 5 min dans du PB 0.1M, les coupes sont montées entre lame et lamelle avec un produit protégeant les fluorochromes (Fluoromount G, SouthernBiotech, 0100-01).

Les images sont acquises avec un microscope à fluorescence classique couplé à une caméra couleur. Le contraste et la luminosité des images sont ensuite retravaillés avec le logiciel Photoshop CS6 Extended.

La figure 33 montre la fluorescence obtenue avec un traceur 10kDa (**Figure 33A**), et un traceur 3 kDa (**Figure 33B**) au sein du thalamus. Il apparaît alors très clairement que le dextran 10kDa produit un marquage particulièrement intense, au sein duquel les corps cellulaires peuvent difficilement être identifiés. Le dextran 3kDa produit un marquage nettement plus modéré, qui permet cette fois de distinguer aisément les corps cellulaires. Ainsi, la différence principale du marquage obtenu avec les deux dextrans se situe essentiellement au niveau des fibres, abondamment marquées avec le dextran 10kDa, suggérant que ce marquage peut résulter aussi bien d'un transport rétrograde qu'antérograde. L'identification bien plus aisée des corps cellulaires avec le dextran 3kDa indique très clairement que **le dextran 3kDa est plus adapté pour le traçage rétrograde**.

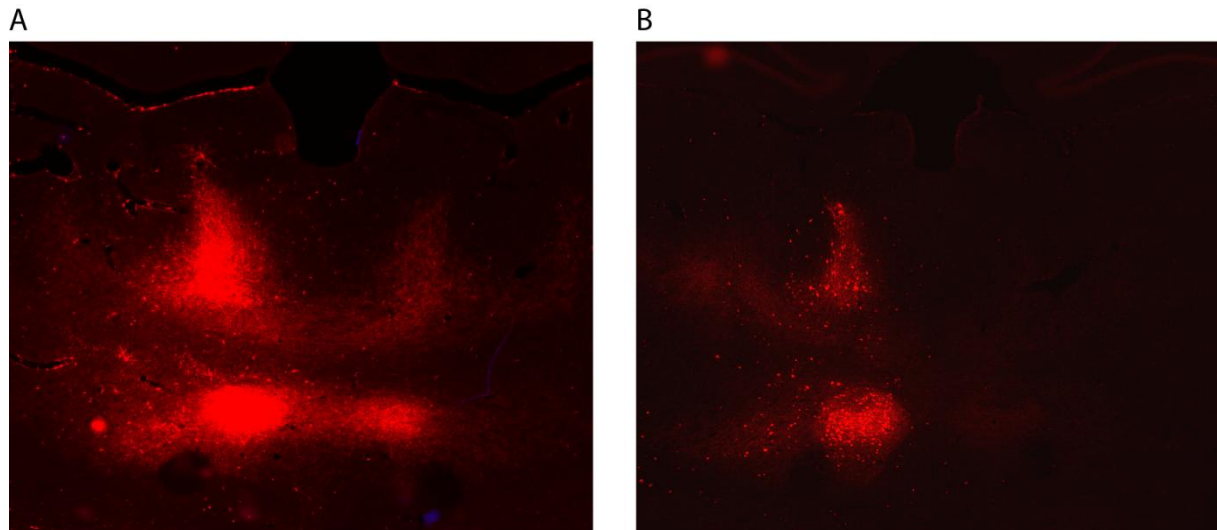


Figure 33 : Fluorescence au niveau thalamique après (A) l'injection dans l'OFC d'un dextran de 10kDa et (B) l'injection dans l'OFC d'un dextran de 3 kDa.

b) Révélation du dextran – Amplification du signal

Sur une deuxième série de coupes coronales issues des mêmes animaux, un protocole d'immunohistochimie est utilisé. Pour le fluororuby, les coupes sont baignées dans une solution contenant un anticorps lapin anti-tétramethylrhodamine (Life technologies, A-

6397) au 1/1000 dans une solution de blocage (4 % de sérum de chèvre et 0.2% de triton X-100 dans du PBS 0.1M) pendant 48h à 4°C. Suite à cette incubation et au rinçage de cet anticorps (4x5minutes dans du PBS 0.1M), l'anticorps secondaire (chèvre anti-lapin, Jackson ImmunoResearch, 111-025-003) qui est couplé à l'Alexa Fluor 546 (fluorescence rouge) et dilué au 1/200 est appliqué pendant 2 heures, à température ambiante. Après un rinçage supplémentaire (4x5 minutes dans du PBS 0.1M), les coupes sont contre-colorées avec une solution de Hoescht diluée au 1/5000 dans du PBS 0.1M pendant 15 minutes. Enfin, les coupes sont rincées une dernière fois (4x5 minutes dans du PBS 0.1M), puis montées entre lame et lamelle avec du fluoromount-G.

Le protocole est le même pour l'anticorps vert. Dans ce cas de figure, un anticorps primaire chèvre anti-fluorescéine (Life technologies, A-11096) dilué au 1/200 est utilisé. L'anticorps secondaire est un âne anti-chèvre (Jackson ImmunoResearch, 705-546-147) couplé à un Alexa-Fluor 488 (émet une fluorescence verte) dilué au 1/200.

Les images sont ensuite acquises de la même façon que précédemment.

La figure 34 présente la région thalamique précédente avec (Figure 34B et D) ou sans (Figure 34A et C) traitement immunohistochimique. Il apparaît très clairement que l'amplification supplémentaire augmente nettement l'intensité du signal dans les deux cas, tout en préservant un niveau de fond raisonnable (Figure 34B et C). En ce sens, le ratio signal/bruit est amélioré de façon substantielle pour les deux traceurs et l'amplification immunohistochimique apparaît donc comme recommandée pour toute étude descriptive.

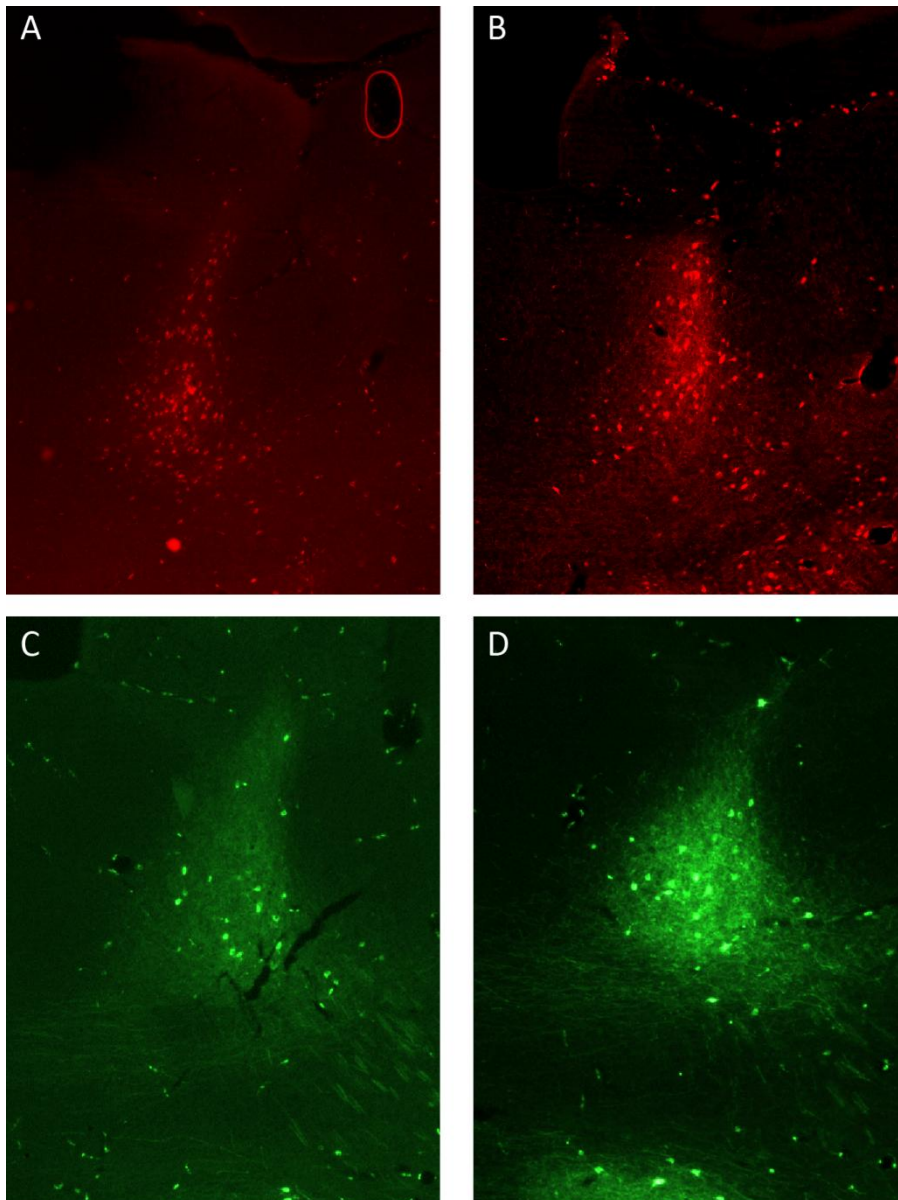


Figure 34: Le marquage observé directement sans amplification est présenté en (A) et (C) pour les dextrans respectivement rouge et vert. L'amplification de ce signal par l'approche immunohistochimique est clairement appréciable aussi bien pour le dextran rouge (B) que vert (D).

2) Double injection des traceurs et analyse d'image

Pour pouvoir comparer directement l'importance relative des différentes voies thalamocorticales issues du MD, il nous faut injecter les deux traceurs chez un même animal (voir le Tableau 1 du **Manuscrit 1**) dans deux zones corticales différentes, afin d'analyser le marquage obtenu au niveau thalamique pour éventuellement en faire une évaluation semi-quantitative.

a) Révélation des dextrans

Une semaine après la chirurgie, les rats sont sacrifiés de la même façon que précédemment. Une fois les cerveaux récupérés et coupés, les coupes correspondant au thalamus sont soumises à un traitement immunohistochimique. Dans un premier bain et suite à un premier rinçage (4x5 minutes dans du PBS 0.1M), chacune des séries est déposée dans une solution (**Figure 35A**, étape 1) contenant un anticorps lapin anti-tétraméthylrhodamine dilué au 1/1000, et un anticorps chèvre anti-fluorescéine dilué au 1/200, tous deux dans une solution de blocage (4 % de sérum d'âne et 0.2% de triton X-100 dans du PBS 0.1M). La préparation est incubée pendant 48h à 4°C. Suite à cette première incubation et après rinçage des anticorps primaires (4x5 minutes dans du PBS 0.1M), un deuxième bain est appliqué (**Figure 35A**, étape 2). Ce bain est une solution d'un anticorps secondaire contenant un anticorps âne anti-chèvre couplé à un Alexa Fluor 488 (émet une fluorescence verte) dilué au 1/200. Suite à cette incubation de 2h à température ambiante, et au rinçage de cet anticorps (4x5 min dans du PBS 0.1M), un troisième bain d'anticorps est appliqué (**Figure 35A**, étape 3). Il contient le deuxième anticorps secondaire chèvre anti-lapin couplé à l'Alexa Fluor 546 (émet une fluorescence rouge) dilué au 1/200. De la même façon, cette préparation sera incubée sous agitation pendant 2h à température ambiante. **Notons qu'il est indispensable d'appliquer l'anticorps âne anti-chèvre en premier**, puisqu'il peut reconnaître le deuxième anticorps secondaire chèvre anti-lapin. Enfin, les coupes sont contre-colorées et montées comme précédemment.

Un exemple des résultats de ce traitement sur une coupe du thalamus est décrit sur la **Figure 35B**. Différentes zones ressortent clairement par rapport à la contre-coloration. De même, des profils de marquages différents sont visibles, avec des aires thalamiques exprimant uniquement le traceur vert, et d'autre uniquement le traceur rouge.

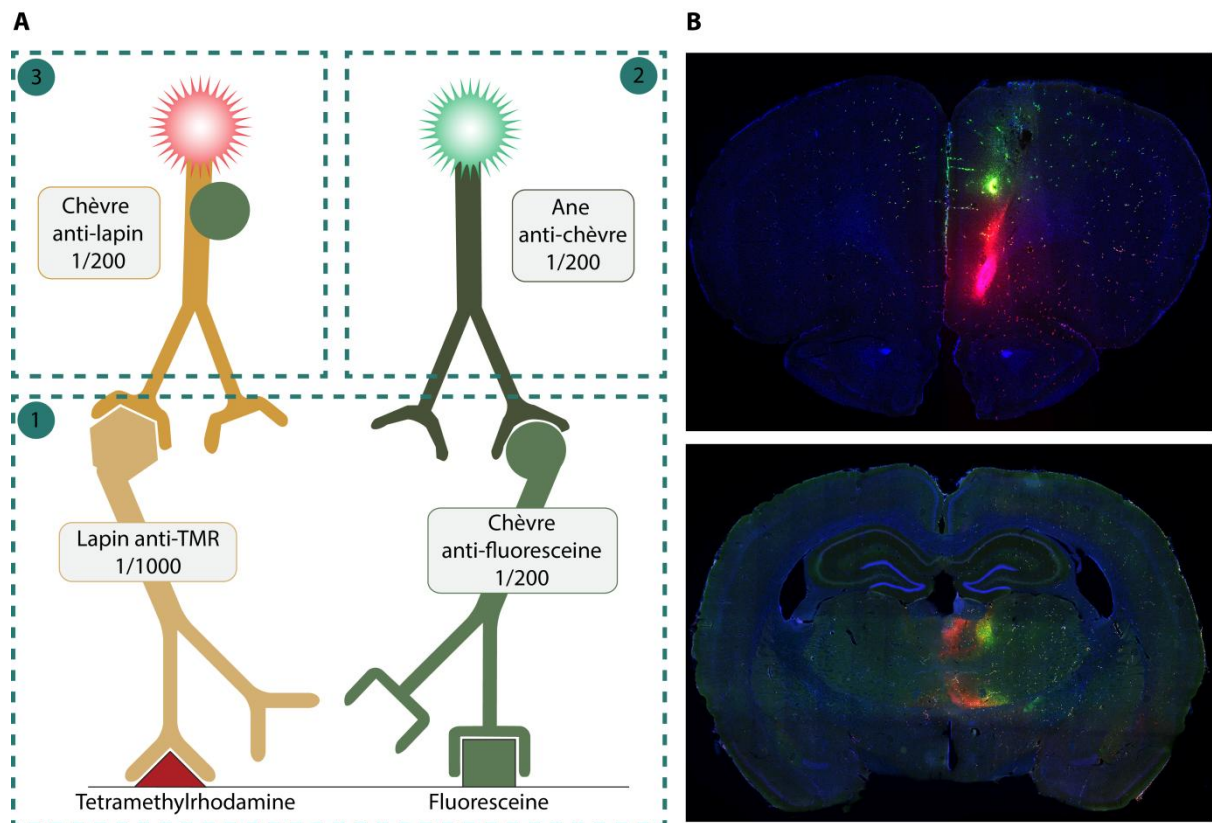


Figure 35 : (A) Méthode immunohistochimique de détection des deux traceurs. L'étape 1 correspond à l'ajout d'une solution contenant les deux anticorps primaires. Dans une étape 2, l'anticorps secondaire dirigé contre la chèvre est déposé en premier, puis rincé, pour éviter sa liaison sur la partie constante du deuxième anticorps secondaire. Le deuxième anticorps secondaire est déposé en dernier dans l'étape 3. (B) Image du site d'injection du traceur (haut) et exemple de résultat obtenu après amplification immunohistochimique au niveau thalamique (bas).

b) Acquisition des images

Dans le but de pouvoir analyser au mieux le marquage observé au niveau thalamique, nous avons utilisé un scanner à lame (Hamamatsu Photonics) disponible au BIC (« *Bordeaux Imaging Center* »). Ce scanner de lames nous permet d'acquérir l'ensemble de la lame, à une résolution allant jusqu'à 40X (**Figure 36D**) pour chacun des trois canaux correspondant au fluoruby (rouge), au fluoroemerald (vert) et à la contre-coloration des corps cellulaires (Hoechst, bleu). L'utilisation du logiciel NDP.view (Hamamatsu Photonics) nous permet par la suite de nous déplacer sur la lame, et de zoomer sur chacune des coupes (**Figure 36**). Ce dispositif nous permet donc d'observer les coupes à loisir, sans perte d'intensité du signal fluorescent (« *bleaching* ») même au grossissement maximal afin de sélectionner les images les plus pertinentes. Ces images sont ensuite exportées à partir de ce logiciel en format TIFF à une résolution de 5X.

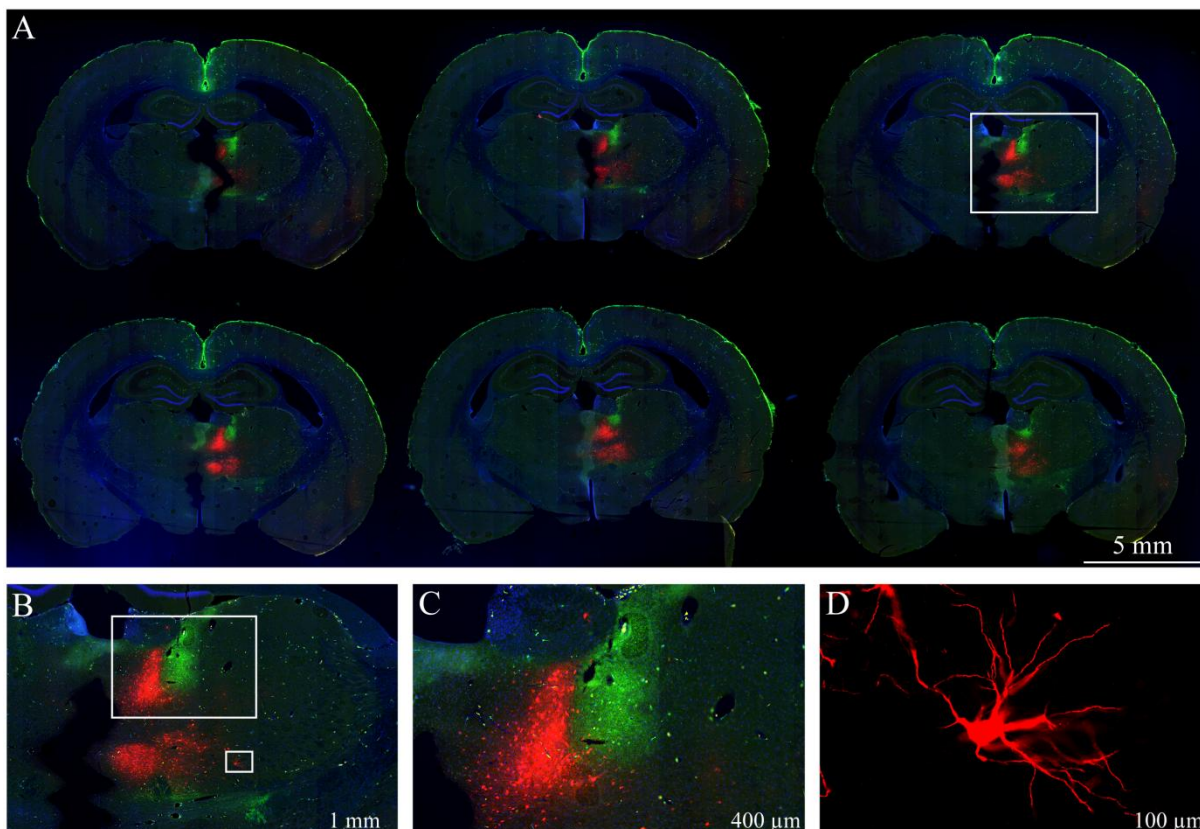


Figure 36 : (A) Exemple d'une lame scannée au nanoscope. Le dextran vert a été injecté dans le PL, et le dextran rouge dans l'OFCI. Cette première vue permet d'avoir une vue générale de l'évolution du marquage. La sélection blanche est agrandie 3,5X en (B). Les deux encadrés blanc correspondent à un agrandissement de 6X en (C), et 35X en (D).

c) Analyse des images – Inclusion sur l'atlas stéréotaxique

Afin de délimiter les frontières du thalamus médiodorsal sur les coupes de cerveau, nous avons fait correspondre les planches de l'atlas de Paxinos à nos coupes. Pour cela, nous avons utilisé les fonctions de transformation et de déformation disponibles sur le logiciel Adobe Photoshop CS6 (**Figure 37**). Par l'utilisation de ces outils, nous avons recadré l'image de la coupe dans la figure de l'atlas. Grâce à la contre-coloration, certaines zones cérébrales apparaissent distinctement (l'hippocampe, le corps calleux, les ventricules, la capsule interne) et permettent d'ajuster ces frontières anatomiques à celles de l'atlas en privilégiant toujours les repères anatomiques délimitant la zone thalamique d'intérêt. Par cette technique, nous nous sommes départis de tout biais humain en évitant de tracer nous-mêmes les limites des noyaux thalamiques, et en particulier celles des différents segments du MD.

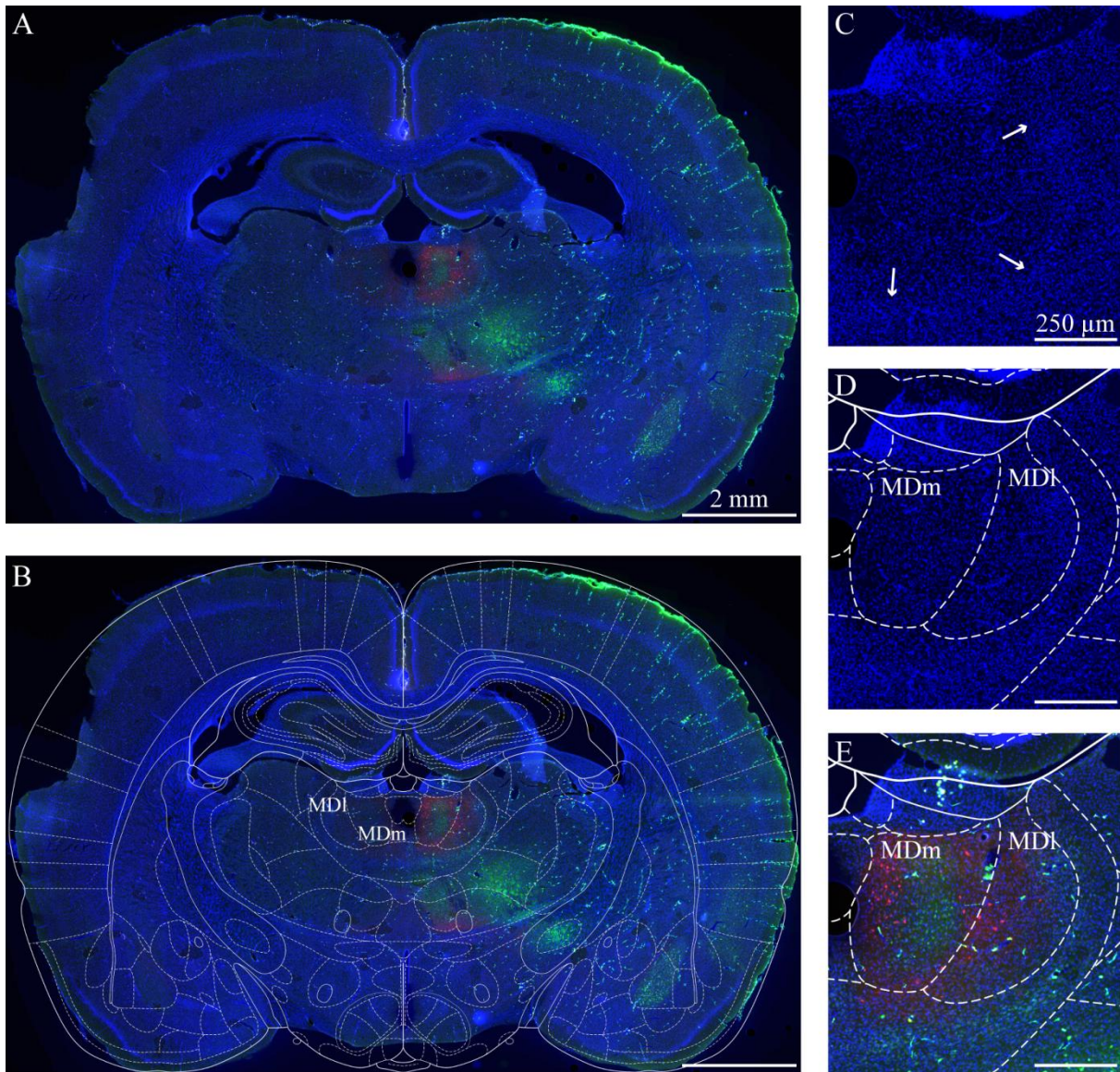


Figure 37 : (A) : Image initiale avant incorporation sur la planche correspondante de l'atlas de Paxinos. Le dextran rouge a été injecté dans l'IL, et le dextran vert dans l'OFCl (B) Image A recadrée sur la planche de l'atlas de Paxinos et Watson (7^{ème} édition). Un soin particulier est apporté pour que les zones saillantes telles que le corps calleux, la capsule interne, les limites du thalamus et les ventricules correspondent aux frontières de l'atlas. Les régions médianes (MDm) et latérale (MDl) du MD sont indiquées. (C) Zoom sur le MD. La frontière entre MD et les noyaux intralaminaires est visible avec la contre-coloration (flèche blanche). (D) et (E) même zone thalamique avec les frontières de l'atlas.

d) Analyse des images – Marquages des neurones

Une fois l'image recadrée sur l'atlas, l'objectif est de marquer les corps cellulaires des neurones et de les reporter sur l'atlas. Pendant cette étape, l'atlas est caché pour faciliter l'analyse (**Figure 38A**). Au niveau du thalamus médiodorsal, l'utilisation des outils de niveau et de contraste permet d'isoler les corps cellulaires des neurones, et de minimiser le bruit de fond (**Figure 38C et F**). Les corps cellulaires sont alors pointés manuellement (**Figure 38D et G**).

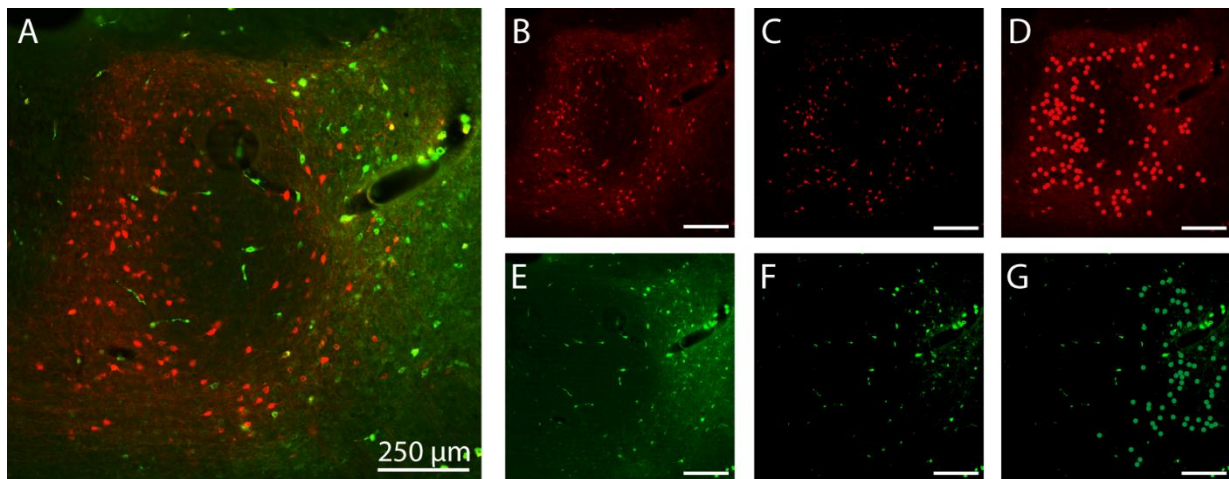


Figure 38 : (A) Image initiale au niveau du MD. Le dextran rouge a été injecté dans l'IL, et le vert dans le PL. (B) et (E) canaux isolant le dextran rouge et vert respectivement. (C) et (F) Elimination du bruit de fond par modification de la luminosité et du contraste. (D) et (G) Pointage des neurones à partir des images C et F.

e) Analyse des images – Colocalisation

Une fois que les pointages par couleurs sont réalisés, les deux canaux sont rassemblés (**Figure 39A**). Certaines cellules présentent alors un pointage rouge et un pointage vert (**Figure 39A**, cercle blanc pour un exemple). Une analyse plus fine au grossissement le plus important (40X) permet raisonnablement de confirmer ou d'infirmer l'hypothèse d'une cellule doublement marquée (**Figure 39B, C, D**). Les cellules doublement marquées sont alors pointées d'une couleur différente (**Figure 39E**).

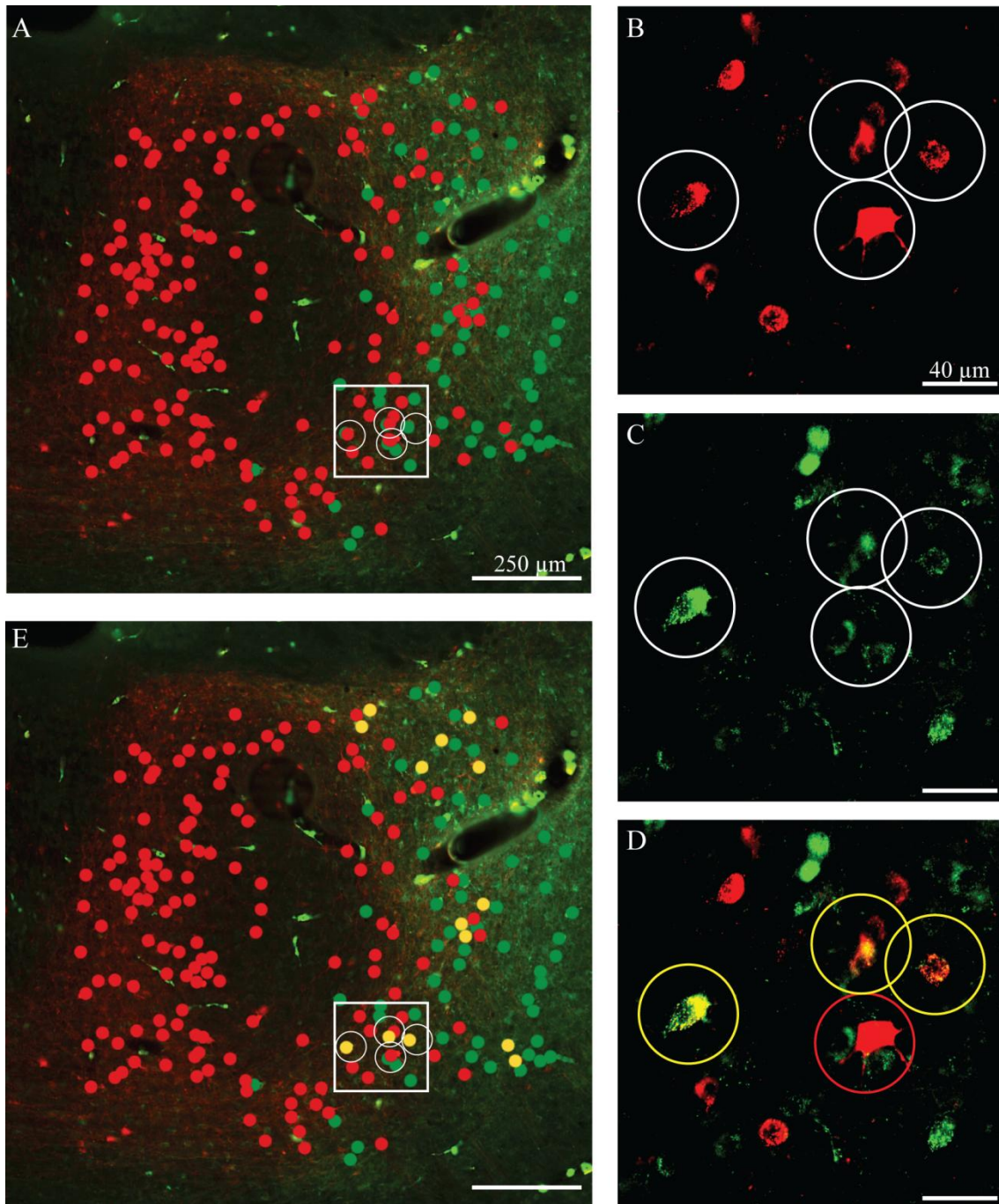


Figure 39 : Détermination des cellules doublement marquées. (A) image regroupant le pointage de neurones des images D et G de la figure X. Un exemple est sélectionné dans le cadre noir, ou trois neurones (encerclés en blanc) expriment potentiellement un double marquage. (B) Zoom maximum dans le canal vert. Les neurones candidats au double marquage sont entourés en blanc. (C) Zoom maximum dans le canal rouge. Les neurones candidats au double marquage sont entourés en blanc. (D) Zoom maximum du cadre noir regroupant les deux canaux. Sur la base de l'analyse des images B, C et D nous considérons que trois neurones sont effectivement doublement marqués (encerclés en jaune) tandis qu'un neurone est considéré comme faux positif (encerclés en rouge). (E) Image finale après détermination de toutes les cellules colocalisant les deux traceurs.

f) Analyse des images – Report des neurones sur l’atlas et comptage

Une fois les neurones marqués, l’atlas est replacé, et l’image originale est cachée pour ne laisser apparaître que les neurones marqués (**Figure 40B**). L’utilisation de l’outil « mesure » dans Photoshop permet alors de compter les neurones (**Figure 40C**). Par la suite, la comparaison des neurones comptés permettra de discuter de l’importance relative de chaque voie thalamocorticale.

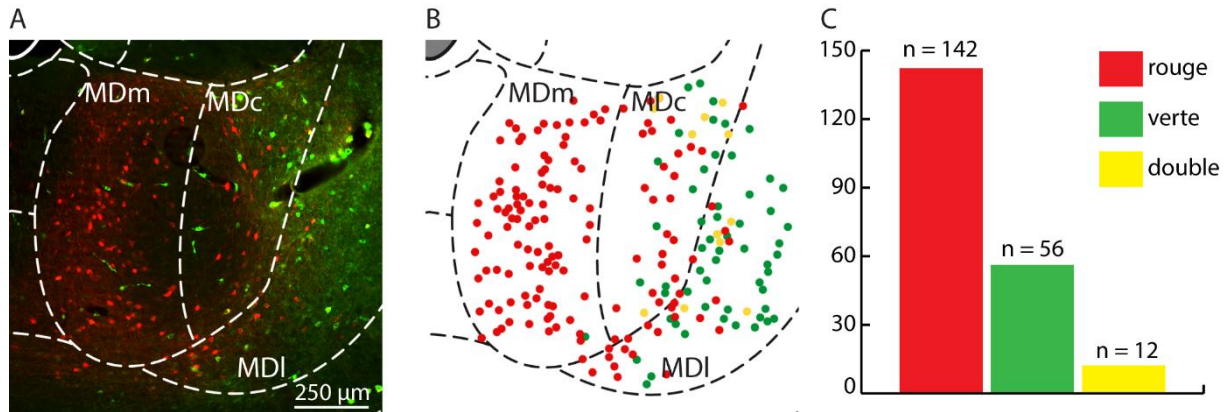


Figure 40 : (A) Image initiale au niveau du MD recalé sur l’atlas de Paxinos. (B) Image A après traitement pour déterminer la localisation des corps cellulaires vert et rouge et les neurones doublement marqués (jaune). (C) Comptage des corps cellulaires de l’image B.

Au final, l’ensemble de cette méthodologie nous a semblé suffisamment aboutie pour entreprendre un travail visant à décrire finement l’organisation des différentes voies thalamocorticales issues du MD. Ce travail est entièrement décrit dans le **Manuscrit 1**, qui a été soumis à la revue *European Journal of Neuroscience* et qui est pour l’instant en révision.

Parallel inputs from the mediodorsal thalamus to the prefrontal cortex in the Rat

Running title: Prefrontal projections from the mediodorsal nucleus

Section: Neurosystems / Editor: Rui Costa

Fabien Alcaraz (1, 2), Gilles Courtand (1, 2), Alain R Marchand (1,2), Etienne Coutureau (1, 2),
Mathieu Wolff (1, 2)

(1) CNRS, INCIA, UMR 5287, 33076 Bordeaux, France

(2) Université de Bordeaux, INCIA, UMR 5287, 33076 Bordeaux, France

Correspondence and reprint requests should be addressed to Mathieu Wolff

Institut de Neurosciences Cognitives et Intégratives d'Aquitaines (INCIA)

UMR 5287, CNRS/Université de Bordeaux

Université de Bordeaux-Site Carreire, BP31

146 rue Léo Saignat

33076 Bordeaux cedex

France

E-mail address: mathieu.wolff@u-bordeaux.fr

keywords: dorsomedial and ventromedial prefrontal cortex, orbitofrontal cortex,
thalamocortical pathway, retrograde tracing, adaptive behaviors

Abstract (210, max 250)

Recently, interest in determining the functional contribution of thalamic inputs to cortical functions has been renewed. In the context of adaptive behaviors, the precise role of the mediodorsal thalamus (MD) in particular has remained somewhat elusive despite the large amount of experimental data available. We reasoned that a better understanding of the thalamocortical connectivity of this region may help to capture its functional role. To address this issue, the present study focused exclusively on the specific connections from the MD to the prefrontal cortex (PFC) by means of direct comparisons of labeling produced by dual injections of different retrograde tracers in the different subdivisions of the PFC in the Rat. We show that at least three parallel and essentially separate thalamocortical pathways originate from the MD, as follows: projections to the dorsal (1) and the ventral (2) subdivisions of the mPFC follow a mediolateral topography at the thalamic level (i.e. medial thalamic neurons target the mPFC ventrally whereas lateral thalamic neurons project dorsally) whereas a considerable innervation to the OFC (3) includes thalamic cells projecting to both the lateral and the ventral OFC subdivisions. These observations provide new insight on the functions of the MD and suggest a more specific focus on each of these pathways for future functional studies.

Introduction

The prefrontal cortex (PFC), the most anterior part of the frontal lobes, has classically been defined as the part of the cortex innervated primarily by afferents from the mediodorsal nucleus of the thalamus (MD) (Rose & Woolsey, 1948; Goldman-Rakic & Porrino, 1985). This area can be differentiated further into several subregions such as the medial prefrontal (mPFC) and the orbitofrontal (OFC) cortices, which differ not only by their specific connectivity but also by the functions that they support (Gilbert *et al.*, 2010; Wilson *et al.*, 2010). Recently, the conception of the mPFC has evolved to better match the human and primate literature. Thus, in the last iteration of the Paxinos atlas, the terms prelimbic and infralimbic have been abandoned and these areas are now designated by cingulate areas A32 (dorsal and ventral) and A25 (Paxinos & Watson, 2014).

Executive functions such as working memory or cognitive control have long been thought to critically rely on the integrity of the PFC (Robbins, 1996; Smith & Jonides, 1999). More recently however, a conceptual shift has emerged, with heavier focus on purposive, self-serving behaviors supporting decision-making (Koechlin & Summerfield, 2007; Wilson *et al.*, 2010; Mitchell *et al.*, 2014). In this context, interest in understanding the functional contribution of the different thalamic afferents has dramatically increased as it may provide insights on the relative specialization of prefrontal subregions (Bradfield *et al.*, 2013; Mitchell & Chakraborty, 2013; Balleine *et al.*, 2014; Mitchell *et al.*, 2014; Wolff *et al.*, 2015a). The present paper aims at providing a fine description of the neuronal architecture of MD projections to the prefrontal cortex, and more particularly, a better understanding of the quantitative and qualitative features of the MD-mPFC and MD-OFC pathways. This issue has been partially covered previously by single tracer approaches (Goldman-Rakic & Porrino, 1985; Groenewegen, 1988; Bay & Cavdar, 2013). However, it is only by injecting two different retrograde tracers into the mPFC and the OFC in the same animals that it becomes possible to compare directly the neuronal populations providing these thalamic afferents. Moreover the new nomenclature of the mPFC has not been extensively employed thus far, including in recent anatomical studies (Matyas *et al.*, 2014). Thus a major aim of the present study was to document the thalamocortical projections from the MD in the new framework, which may provide ground for a better integration of the primate and rodent literature. To this end, we systematically injected two retrograde tracers with identical retrograde tropism

in the same animals. By doing so, we were able to provide a semi-quantitative analysis of the different thalamocortical pathways originating from the MD and projecting to the mPFC and the OFC regions. We show that differential thalamocortical connectivity characterizes different clusters of cells in the MD and that projections to the mPFC and OFC concern essentially different MD neuronal populations.

Material and Methods

Animals and housing conditions

22 male Long Evans were obtained from Centre d'Élevage Janvier (France), weighting 275 g to 300 g at surgery. Rats were initially housed in pairs and accustomed to the laboratory facility for two weeks before the beginning of the experiments. Environmental enrichment was provided by tainted polycarbonate tubing elements, in accordance with current French (Council directive 2013-118, February 1, 2013) and European (directive 2010-63, September 22, 2010, European Community) laws and policies regarding animal experiments. The facility was maintained at $21\pm 1^{\circ}\text{C}$ with lights on from 7 a.m. to 7 p.m. and rats were tested only during the light portion of the cycle. The experimental protocols received approval # 5012053-A from the Ethics Committee on December 7, 2012.

Surgery

Rats were anaesthetized with 4% Isoflurane and placed in a stereotaxic frame with atraumatic ear bars (Kopf, Tujunga, CA) in a flat skull position. Anaesthesia was maintained with 1.5-2 % Isoflurane and complemented by subcutaneous administration of Buprenorphin (Buprecare©, 0.05 mg/kg). 4% 3 kDa dextrans (Life technologies) coupled to either fluorescein or tetramethylrhodamine were dissolved in citric acid (pH = 3.0) to enhance retrograde labeling (Kaneko *et al.*, 1996) and were injected in the prefrontal cortex of the rats. Each rat was injected with the two dextrans in the same hemisphere, in order to label and compare two regions of the prefrontal cortex. 0.3 μl injections were made in the ventral (VO) and the lateral (LO) part of the orbitofrontal cortex as well as in the the dorsomedial prefrontal cortex (dmPFC) or the ventromedial prefrontal cortex (vmPFC). The dmPFC essentially corresponds in the new nomenclature to A32d, and for the most posterior part, A24. Regarding the vmPFC, the injections aimed to target A32v and A25. Thus the following coordinates were used: VO, AP +3.7 mm from bregma, laterality ± 1.4 mm, DV -5.2 mm ; LO,

AP +3.7 mm from bregma, laterality ± 2.6 mm, DV -5.0 mm ; dmPFC +3.2 mm from bregma, laterality ± 0.6 mm, DV -3.4 mm ; vmPFC +3.2 mm from bregma, laterality ± 0.6 mm, DV -5.2 mm. The different combinations of tracer injections examined are provided in Table 1. The choice of the particular tracer injected in a given cortical locus was counterbalanced across subjects. Rats were given 7 days of recovery to allow migration of the tracers before sacrifice.

Dextran immunocytochemistry

Rats received a lethal dose of sodium pentobarbital and were perfused transcardially with 150 ml of saline followed by 200 ml of 4% paraformaldehyde (PFA). Following a PFA bath overnight, sections of 40 μ m of the prefrontal cortex and the thalamus were made using a vibratome. In order to enhance visualization of dextrans, immunocytochemistry was performed on the sections. Sections were first rinsed in PBS 0.1 M (5 x 5 minutes), and then incubated in a blocking solution for 1 hour (4% donkey serum and 0.2% Triton X-100 in PBS 0.1 M). Sections were then incubated with rabbit anti-tetramethylrhodamine (Life technologies, A-6397) and goat anti-fluorescein (Life technologies, A-11096) primary antibodies diluted at 1/1000 and 1/200 respectively in the blocking solution for incubation at 4°C for 48 h. After further rinses in PBS 0.1 M (4 x 5 minutes), slices were placed for 2 hours in a bath containing a donkey anti-goat secondary antibody coupled to fluorescein (1/200 in PBS 0.1M) (Jackson ImmunoResearch, 705-546-147). Following rinses in PBS 0.1 M (4 x 5 minutes), the slices were incubated with the other secondary antibody, goat anti-rabbit coupled to tetramethylrhodamine (1/200 in PBS 0.1 M) (Jackson ImmunoResearch, 111-025-003) for two hours. For the counterstaining, Hoechst solution was added for 15 minutes (1/5000 in PBS 0.1 M) after four 5-minute rinses in PBS 0.1 M. Finally, sections were rinsed in PBS 0.1M (4 x 5 minutes), mounted in PBS 0.05 M onto gelatin-coated slides and coverslipped with the anti-fading reagent Fluoromount G (SouthernBiotech, 0100-01). Images were then captured using a Nanozoomer slide scanner (Hamamatsu Photonics) and analyzed with the NDP.view[®] freeware (Hamamatsu Photonics).

Data Analysis

For 6 rats, the injections were too limited or accuracy of the injection sites was not sufficient. To ensure consistency between the included subjects for the purpose of

comparisons, these cases were excluded from the analysis. In addition, for 4 rats, only one injection was sufficiently accurate for inclusion in the analysis (see Table 1). In general, dextrans injections encompassed all cortical layers as we did not attempt to target more specifically some of these layers.

Single injections analysis

Three representative rats were selected on the basis of the quality and consistency of the labeling at the level of the thalamus. On NDP viewer, the MD region was extracted at a 5X magnification in TIFF format. The counterstaining provided by the Hoechst solution helped to select appropriate and consistent samples across rats on the rostrocaudal axis which were chosen to provide the best illustration for each case and are therefore specified on each figure. The resulting pictures were then analyzed on Adobe Photoshop, together with the corresponding electronic sections of the 6th edition Paxinos Atlas. The extracted pictures from the MD region were mapped to the Atlas using the boundaries of the cortex, the hippocampus, the ventricles, the internal capsule and the corpus callosum as landmarks to ensure accuracy of this manipulation. After extracting the color channel corresponding to the fluorophore of interest (green or red), the neurons were manually pointed and counted under Adobe Photoshop. Thus, the counted neurons correspond to the units identified on each selected slice (one per slice and per animal at anterior, intermediate and posterior levels) as evident on the schematics. The overall values correspond to the total number of units detected per rat (i.e. on the three selected slices).

Double injections analysis

Processing of the pictures was done as previously except that two layers were created under Adobe Photoshop, one for each color of tracer. When two color markers coincided, neurons were checked for double staining using their position and shape on matched images under 20X and 40X magnification, following a standard practice adopted in previous tracing studies (Hoover & Vertes, 2012). Examples are provided on figure 10.

Injection site representation

For each case, all prefrontal slices presenting traces of injection were extracted from NDP.viewer at the resolution of 2X, in TIFF format. Each picture of the PFC was imported on Adobe Photoshop, with the corresponding Atlas slide. Each slice was then adjusted to the Atlas slide with the transformation tools of Adobe Photoshop using the same landmarks as

previously described. The location of the injection was then determined dorsoventrally and mediolaterally using Atlas coordinates and reported on sagittal and horizontal Atlas slides.

		mPFCd	mPFCv	LO	VO
VO/LO	#8			ruby	emerald
	#10			emerald	ruby
	#12			emerald	ruby
	#15			ruby	emerald
mPFCd/mPFCv	#5	ruby	emerald		
	#26	emerald	ruby		
mPFCv/LO	#30		emerald	ruby	
	#31		ruby	emerald	
mPFCd/LO	#28	emerald		ruby	
	#29	emerald		ruby	
	#32	ruby		emerald	
	#33	emerald		ruby	
Single Injection	#7	emerald			
	#11				ruby
	#18			emerald	
	#27		emerald		

Table 1. Included cases for the qualitative and semi-quantitative analyses. Section “Single injections” correspond to cases for which only one of the injections was considered (see methods for included cases). “Ruby” and “Emerald” correspond to the different fluorophores (FR and FE) attached to the dextran (color red and green, respectively).

Results

In the following section, the details are only reported for a few representative cases but the pattern of labeling observed was consistent across different cases whatever the particular tracer injected in the target area. We first provide an analysis of the labeling produced by each single injection, before comparing them in a systematic manner. A constant feature across all cases examined was the absence of labeled cells bodies in the contralateral thalamus, indicating that thalamocortical projections arising from the MD are essentially ipsilateral.

1. Single dextran injections

1.1 Medial Prefrontal Cortex

1.1.1 Dorsomedial injections (A32d/A24)

For the three included cases, the injections targeted very similarly the dmPFC, centering in A32d without diffusion in in A32v (Figure 1A). The tracer did not spread to the most anterior and posterior parts of the dmPFC. The size of the three injections was comparable; however the number of neurons at the thalamic stage was greater for case 26 (n=164, 46%) than for cases 28 (n=87, 25%) and 33 (n=102, 29%).

In the anterior part of the MD, dmPFC projecting thalamic cell bodies were found mainly in the lateral segment of the MD (Figures 1B and 1C, left), with spread in the adjacent contralateral and possibly the paracentral nuclei, which are part of the intralaminar group. At an intermediate level on the rostrocaudal axis, labeled neurons were found in the lateral segment of the MD and in the lateral part of the central segment (Figures 1B and 1C, middle). Caudally, neurons were predominantly located in the dorsal part of the lateral and the central segments, with additional sparse labeling at the dorsal part of the medial segment (Figures 1B and 1C, right). The density of labeling was essentially constant across the three levels considered within the rostrocaudal axis with an average (\pm sem) of respectively 32 ± 9.1 , 45 ± 11 and 40.1 ± 12.8 neurons from the most anterior to the most posterior levels (Figure 1D).

In conclusion, dmPFC projecting cells are predominantly located in the lateral segment of the MD, with a heavier concentration dorsally in the most posterior parts of the MD.

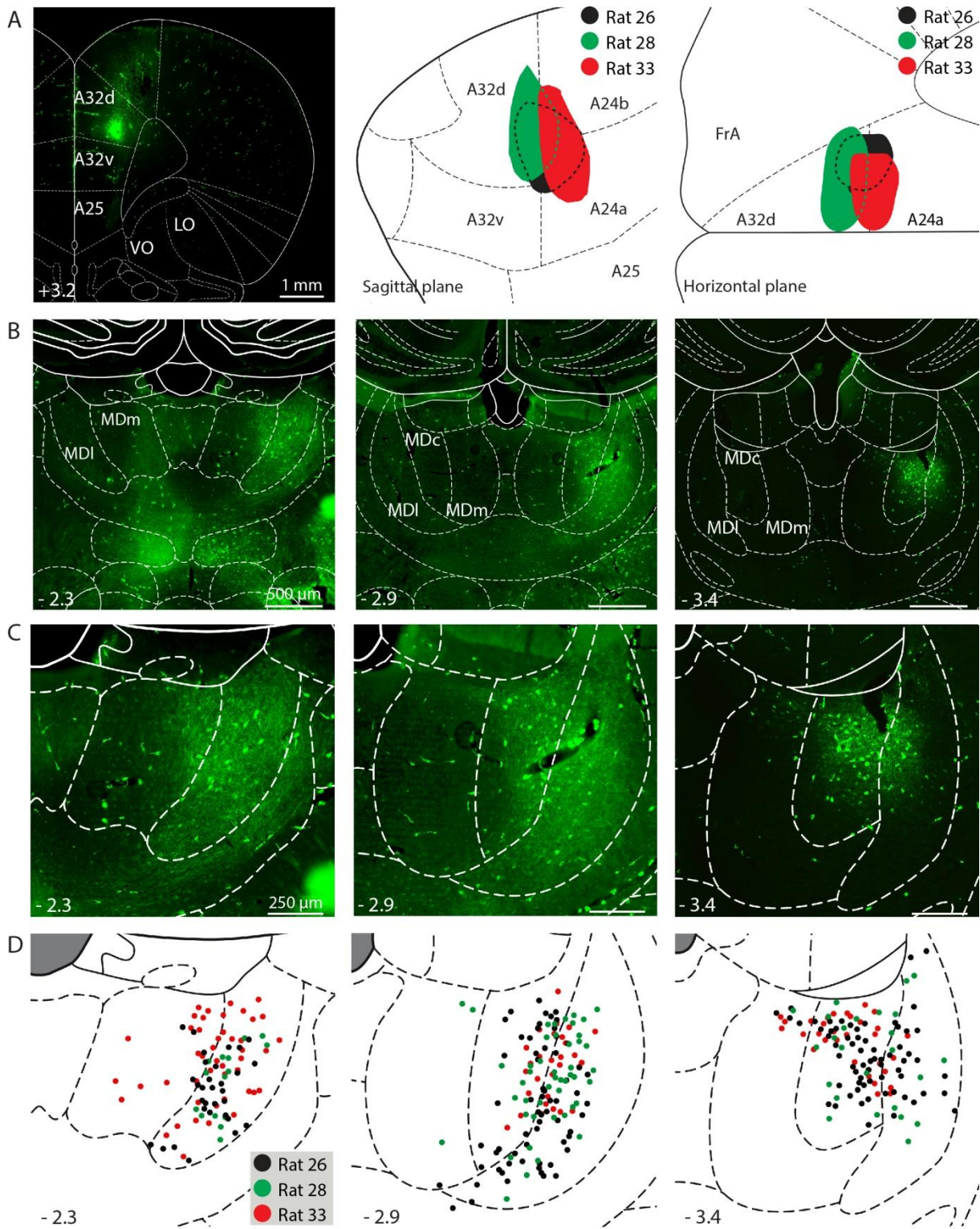


Figure 1. Single injection in the dmPFC (case 26). A. Left: Photomicrograph of the dextran injection in the dmPFC of a representative case; middle and right: Schematics of the dextran

diffusion for the 3 included cases in the sagittal and horizontal planes, respectively. B. Photomicrograph of cell labeling at 3 MD levels, -2.3 (left), -2.9 (middle) and -3.4 (right) relative to bregma (mm) resulting from the injection shown in A, left. C. Same photomicrograph than in B at higher magnification. D. Schematics of cells labeling produced at three MD levels by injections shown in A middle and right.

1.1.2. Ventromedial injections (A32v/A25)

Qualitatively similar vmPFC injections were evident in the three included cases, with diffusion of the dextran in the A32v as well as in A25 (Figure 2A). The most posterior part of A25 was never reached by any injection. On this instance, injections sizes varied slightly between rats, with case 26 showing the largest diffusion. As a consequence, the number of labeled cells found at the thalamic level varied accordingly with case 26 showing the highest number of neurons ($n=302$, 42 %), whereas cases 30 and 31 were essentially similar with respectively 196 (27%) and 218 neurons (31%).

At the thalamic stage, a consistent pattern of labeling emerged between the three cases. The most anterior labeled thalamic neurons were largely confined in the medial segment, with only few cells in the lateral segment (Figures 2B and 2C, left). At the intermediate level of the rostrocaudal axis, a less common pattern of labeling was evident, with vmPFC projecting cells disposed on a virtual circle surrounding an empty area corresponding to the central as well as the most lateral part of the medial segment (Figures 2B and 2C, middle). Caudally, fewer cells were apparent, exclusively in the dorsal part of the medial and the central segments of the MD (Figures 2B and 2C, right). Quantitatively, more cells were visible at the anterior and the intermediate levels with an average of respectively 80 ± 11.3 , 122.3 ± 18.7 neurons while there was only an average of 36 ± 7 labeled neurons at the most posterior level considered (Figure 2D).

The main conclusion is therefore that the MD provides considerable innervation to the vmPFC, originating predominantly from the medial and the central segments. Caudally, substantially fewer neurons were found, exclusively in most dorsal areas within the MD.

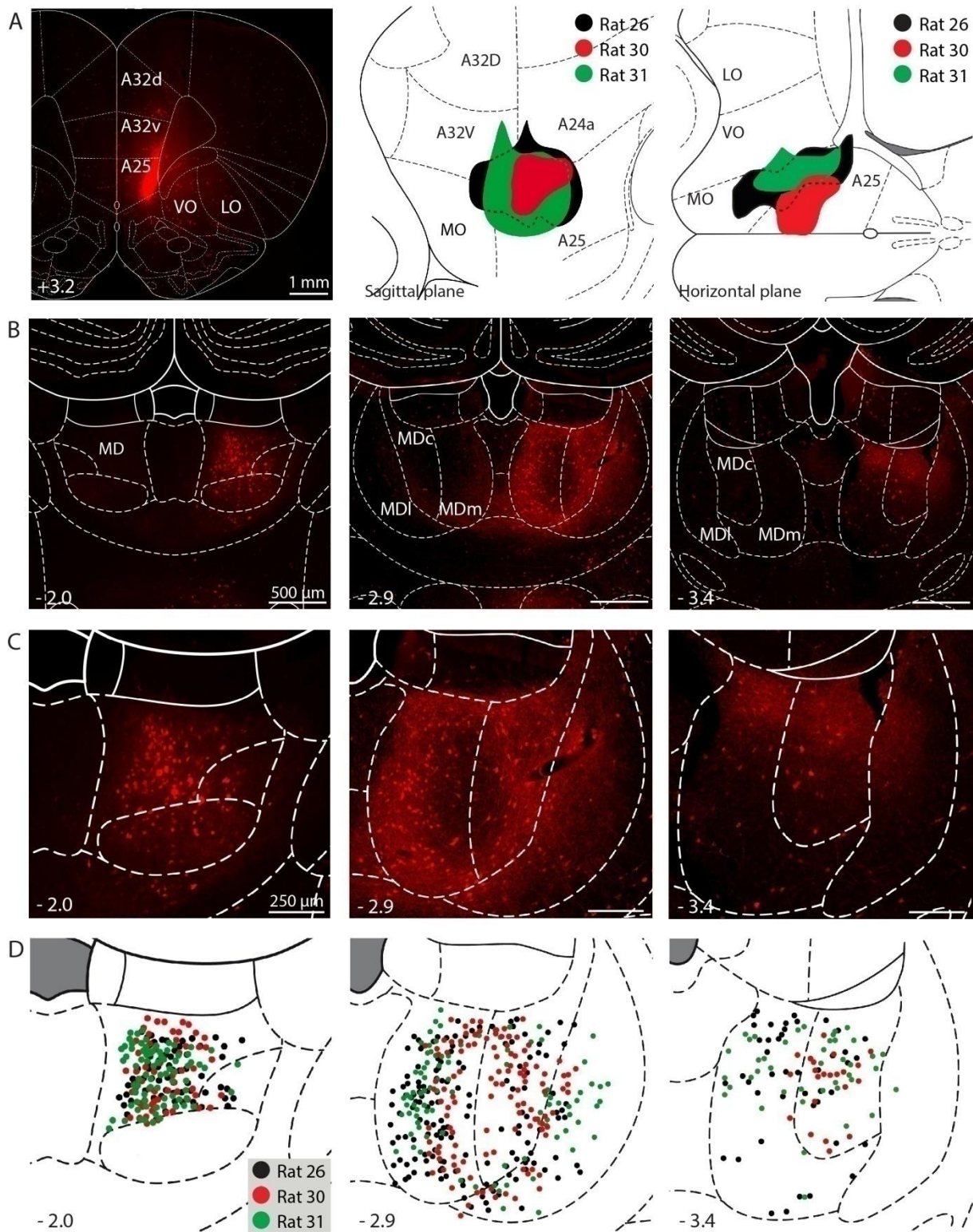


Figure 2. Single injection in the vmPFC (case 26). A. Left: Photomicrograph of the dextran injection in the vmPFC of a representative case; middle and right: Schematics of the dextran diffusion for the 3 included cases in the sagittal and horizontal planes, respectively. B. Photomicrograph of cell labeling at 3 MD levels, -2.0 (left), -2.9 (middle) and -3.3 (right)

relative to bregma (mm) resulting from the injection shown in A, left. C. Same photomicrograph than in B at higher magnification. D. Schematics of cells labeling produced at three MD levels by injections shown in A middle and right.

1.2 Orbitofrontal cortex

1.2.1. Lateral orbitofrontal injection

For the three included cases, the dextran diffusion was strictly restricted to the LO, without reaching the most anterior and posterior extremities of this structure (Figure 3A). There was a degree of variability in the diffusion of the injections within the LO but in this case, the resulting labeling did not necessarily vary accordingly in the MD. While the overall size of dextran diffusion was clearly greater in case 15, there were more labeled cells with the more modest diffusion observed in case 12 with 221 (40% of total labeled neurons) versus 172 (31% of total labeled neurons) thalamic neurons labeled, respectively. The diffusion of the dextran was even less pronounced in case 10, resulting effectively in fewer labeled cells in the MD (n=156, 29% of total labeled).

At the most anterior level of the MD considered, relatively few thalamic neurons were found, located on the boundary between the medial and the central segments (Figures 3B and 3C, left). Further back, almost all labeled cells fitted in the central segment of the MD, with very sparse labeling in the ventral part of the medial and the lateral segments (Figures 3B and 3C, middle). Finally, at the most posterior level, numerous labeled cells were evident in the ventral part of the three segments (Figures 3B and 3C, right). Regarding neurons counts, there was an average of 34 ± 5.5 , 85.3 ± 9.8 and 63.7 ± 4.7 labeled cells from the most anterior to the most posterior MD level considered (Figure 3D).

In brief, LO projecting cells were relatively few at the most anterior level. More caudally, they predominantly occupied the central segment, with a large preference for a ventral position for the most posterior part.

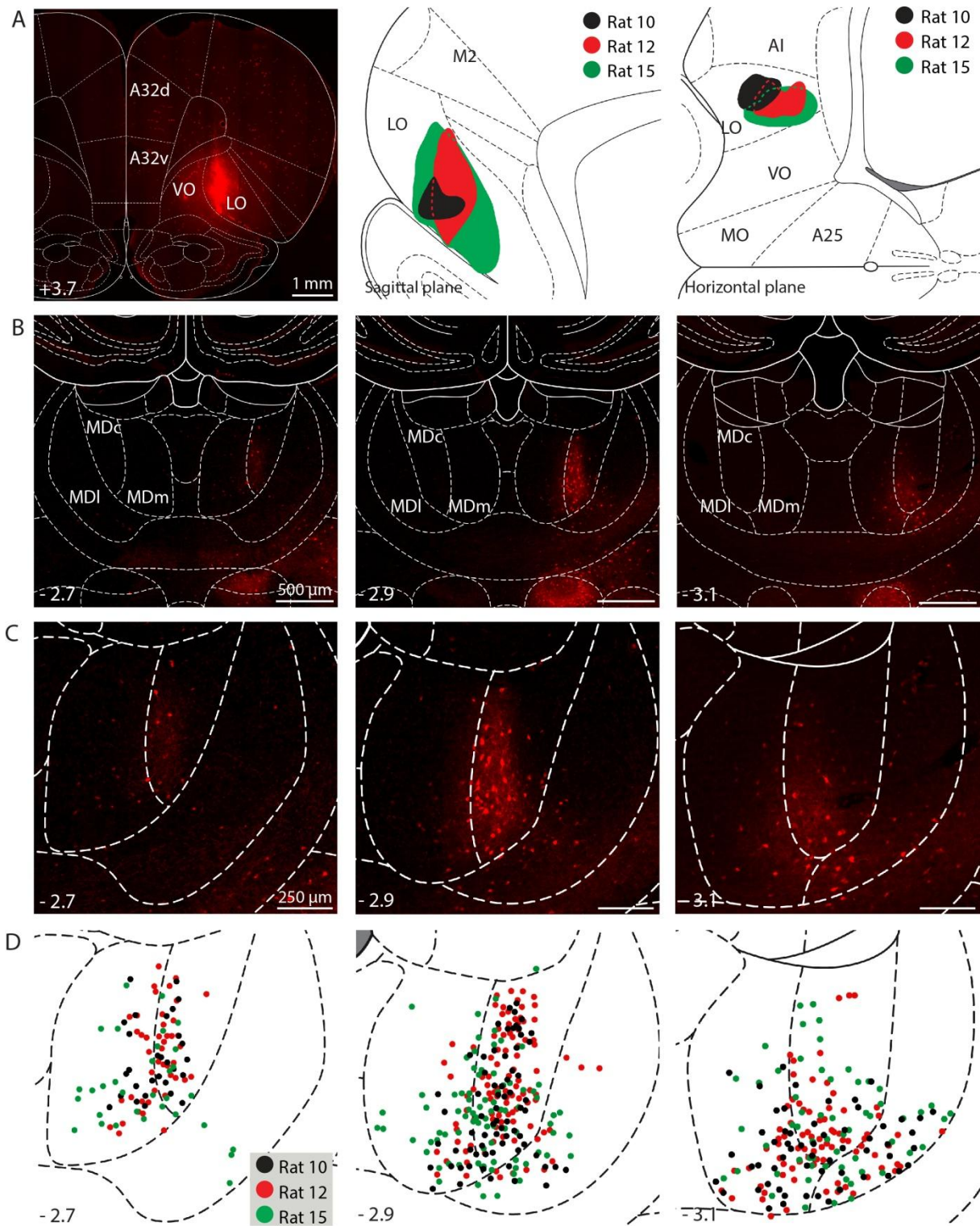


Figure 3. Single injection in the LO (case 15). A. Left: Photomicrograph of the dextran injection in the LO of a representative case; middle and right: Schematics of the dextran diffusion for the 3 included cases in the sagittal and horizontal planes, respectively. B. Photomicrograph of cell labeling at 3 MD levels, -2.7 (left), -2.9 (middle) and -3.1 (right) relative to bregma (mm) resulting from the injection shown in A, left. C. Same

photomicrograph than in B at higher magnification. D. Schematics of cells labeling produced at three MD levels by injections shown in A middle and right.

1.2.2 Ventral orbitofrontal injection

For the three included cases, injections were located in the same cortical locus, covering the anterior and medial part of the VO, with only modest diffusion in the LO (Figure 4A). As for other injections, the most posterior part of the VO was not reached by the injections. Cases 10 and 15 were highly comparable in size, while case 12 showed a more restricted injection site. However, neurons counts in the MD were remarkably consistent across the three cases with 176 neurons for the case 10 (32%), 199 neurons for the case 12 (37 %) and 166 neurons for the case 15 (31 %).

In the MD, the most immediate observation was that the pattern of labeling was highly comparable to that described with injections in the LO. Indeed, very few labeled cells were found at the most anterior MD level (Figures 4B and 4C, left) while more robust labeling was evident more caudally, in the central segment (Figures 4B and 4C, middle). In this case, it is worth signaling that below the MD, there was a particularly well labeled area corresponding to the submedialis nucleus of the thalamus (visible only on Figure 4B). Caudally, labeling was only evident ventrally (Figures 4B and 4C, right). These observations were confirmed by neuronal counts with only an average of 39.7 ± 7.2 labeled cells in the most anterior level, while an average of 77 ± 2.1 and 63.7 ± 4.1 was reached at the intermediate and caudal MD levels, respectively (Figure 4D).

Thus, this initial experiment with single tracer injections showed comparable labeling of MD cells following cortical dextran injections in either the LO or the VO.

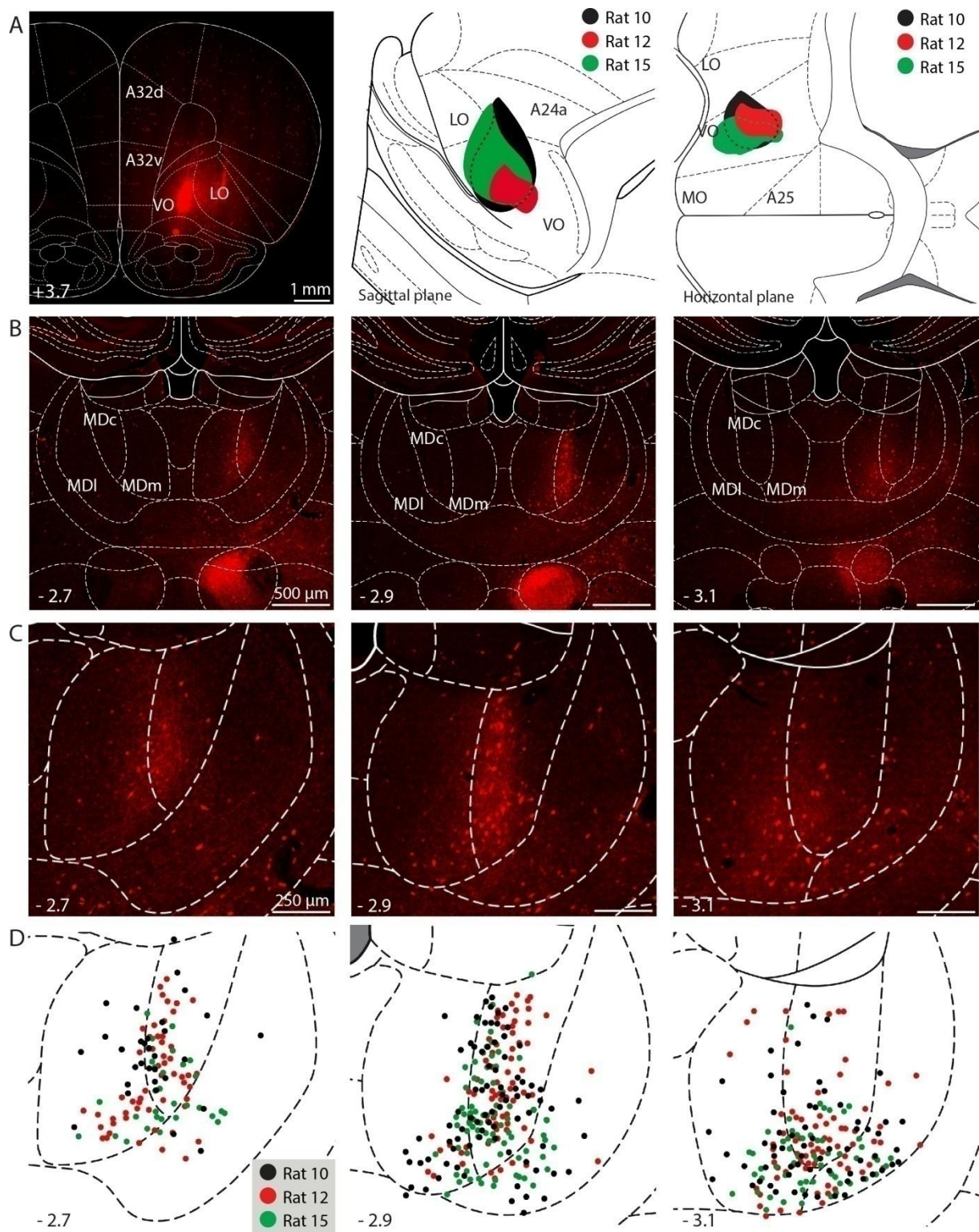


Figure 4. Single injection in the VO (case 10). A. Left: Photomicrograph of the dextran injection in the VO of a representative case; middle and right: Schematics of the dextran diffusion for the 3 included cases in the sagittal and horizontal planes, respectively. B. Photomicrograph of cell labeling at 3 MD levels, -2.7 (left), -2.9 (middle) and -3.1 (right)

relative to bregma (mm) resulting from the injection shown in A, left. C. Same photomicrograph than in B at higher magnification. D. Schematics of cells labeling produced at three MD levels by injections shown in A middle and right.

2. Double dextran injections

2.1. Medial prefrontal cortex: dorsal versus ventral subdivisions

Dorsal and ventral injections of the dextrans in the mPFC for the included, representative case are described extensively in the previous section (case 26). The direct comparison of these injection sites revealed no overlap as areas A32d and A32v/A25 are well separated (Figure 5A).

The immediate observation in the MD was that essentially separate clusters of neurons appeared to be labeled by injections in the dorsal *versus* the ventral mPFC with the former population being more lateral than the later. While the two populations appeared to be essentially separated along the rostrocaudal axis (Figures 5B and 5C), some examples of double labeled cells were found at the border between the lateral and the central segments. At the anterior level of the MD, there were fewer neurons projecting to the dmPFC neurons ($n=21$, 18% total labeled neurons) than to the vmPFC ($n=92$, 78% total labeled neurons). A minority of cells appeared labeled by both tracers ($n=5$, 4% total labeled neurons) (Figures 5B-D, left). At the intermediate level, vmPFC projecting cells were still more abundant than dmPFC cells (141, 67% *versus* 56, 26%). Still, only few cells were found to be double labeled ($n=14$, 7%) (Figures 5B-D, middle). Caudally, the proportion of cells projecting to the dorsal *versus* the ventral subdivisions slightly favored the former population with 56 (56%) versus 36 (36%) cells, respectively. Only 8 (8%) cells were labeled by both dextrans (Figures 5B-D, right).

Altogether, the direct comparison of dextran injections performed in the dorsal and the ventral mPFC indicates distinctive qualitative as well as quantitative features of MD-dmPFC and MD-vmPFC pathways. The MD cells from which they take their origin are essentially different with a more lateral location for dmPFC projecting cells. In addition, vmPFC projecting cells were more abundant except at the most caudal level of the MD (Figure 5E).

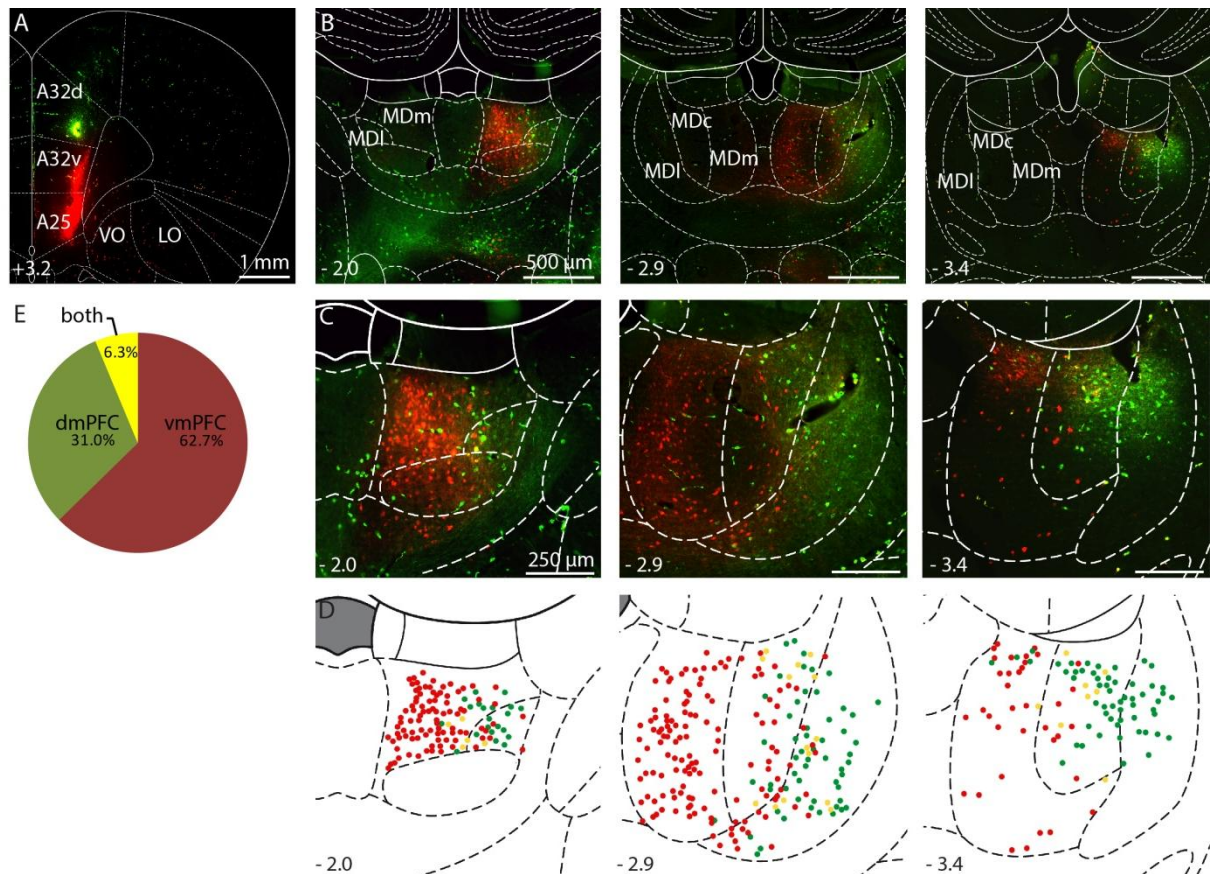


Figure 5. Dual injections in the dmPFC and the vmPFC (case 26). A. Photomicrograph of FE injection in the dmPFC and of FR injection in vmPFC in the same rat. B. Photomicrographs of the resulting labeling at 3 MD levels, -2.0, -2.9 and -3.4 relative to bregma (mm). C. Same photomicrograph than in B at higher magnification and corresponding schematics (D) that were used to produce semi-quantitative assessment (E). Cell counts correspond to points on the schematics.

2.2. Orbitofrontal cortex: lateral versus ventral subdivision

As for the previous case, the two injection sites have been described in the previous section (case 12) and the direct comparison between these two injections showed little overlap (Figure 6A).

Contrasting with the previous comparison within the mPFC, the pattern of labeling appeared to be markedly different in the case of the OFC with strong evidence for substantial colabeling along the rostrocaudal axis, consistent with the very similar pattern of MD labeling produced by single LO and VO injections. At the most anterior level of the MD an essentially similar proportion of cells was found to project to the LO ($n = 21$, 28%), the VO (n

= 31, 41%) or to both areas (n = 23, 31%) (Figures 6B-D, left). At the intermediate level of the MD even more double labeled cells were found (n = 56, 46%) while the proportion of cells projecting only to the LO seemed to outnumber those projecting only to the VO (n = 47, 39% versus n = 18, 15%) (Figures 6B-D, middle)). Again, in the most caudal MD level a large proportion of cells were filled by both tracers (n = 45, 43%) while cells projecting either to the VO or the LO were again present in comparable proportions (n = 25, 23% and n = 35, 33%, respectively) (Figures 6B-D, right). In total, almost half of the neurons counted in the sections examined were labeled by both tracers (n=124, 41%), exceeding the proportion of cells projecting specifically to either the LO (n = 103, 34%) or the VO (n=74, 24%) (Figure 6E, see also Figure 10 for examples of cells considered to be double labeled). Qualitatively, there was no noticeable difference in the localization of the three populations of cells which essentially overlapped along the full extent of the rostrocaudal axis (Figure 6B, C and D). As LO and VO injection revealed a common pattern of neuronal localization in the MD, we injected only the LO for comparison with mPFC areas.

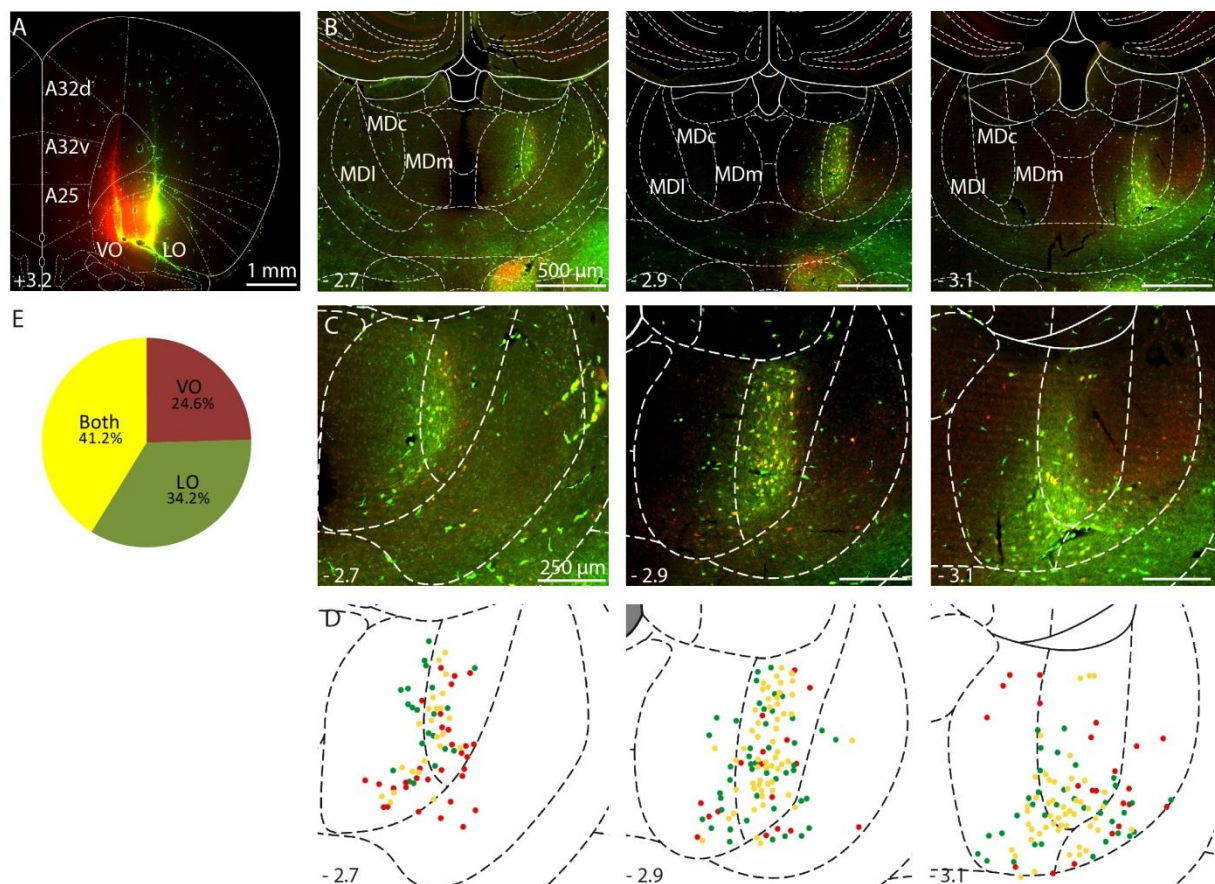


Figure 6. Dual injections in the VO and the LO (case 12). A. Photomicrograph of FE injection in the LO and of FR injection in VO in the same rat. B. Photomicrographs of the resulting labeling at 3 MD levels, -2.7, -2.9 and -3.1 relative to bregma (mm). C. Same photomicrograph than in B at higher magnification and corresponding schematics (D) that were used to produce semi-quantitative assessment (E). Cell counts correspond to points on the schematics.

2.3 Medial prefrontal and orbitofrontal cortices

2.3.1. Dorsal mPFC and LO

In this case, the two cortical target areas are quite far apart, so there is no particular concern regarding any overlap of these injections (Figure 7A).

Figure 7 shows very clearly that both injections produced completely separated clusters of labeled cells. At the most anterior level of the MD, the proportion of cells projecting to the dmPFC and the LO were equivalent, with 38 (50%) and 30 (40%) labeled neurons, respectively (Figures 7B-D, left). It is at this level that the few double labeled cells were found (only 8 neurons, 10%). More caudally, at an intermediate level on the anteroposterior axis, LO projecting cells were found to largely outnumber dmPFC projecting cells ($n = 144$, 85% *versus* $n = 23$, 14%) while the proportion of cells showing evidence of double labeling was negligible ($n = 2$, 1%) (Figures 7B-D, middle). At the most caudal extremity of the MD, although the overall number of labeled cells slightly decreased, similar observations were evident with 90 LO projecting neurons (74%), 31 dmPFC projecting neurons (26%) and, on this instance, no evidence of any cell that would be labeled by both tracers (Figures 7B-D, right). Altogether, 72% of the total number of labeled cells were labeled by the LO injection and this proportion dropped to 25% for the dmPFC injection. Less than 3% of cells were labeled by both tracers (Figure 7E).

Collectively, these observations show that within the MD, two different populations give rise to distinct thalamocortical pathways innervating specifically the dmPFC or the LO. The first population is essentially located in the lateral segment while the second population, overall more abundant, is present at the boundary between the medial and the central segments.

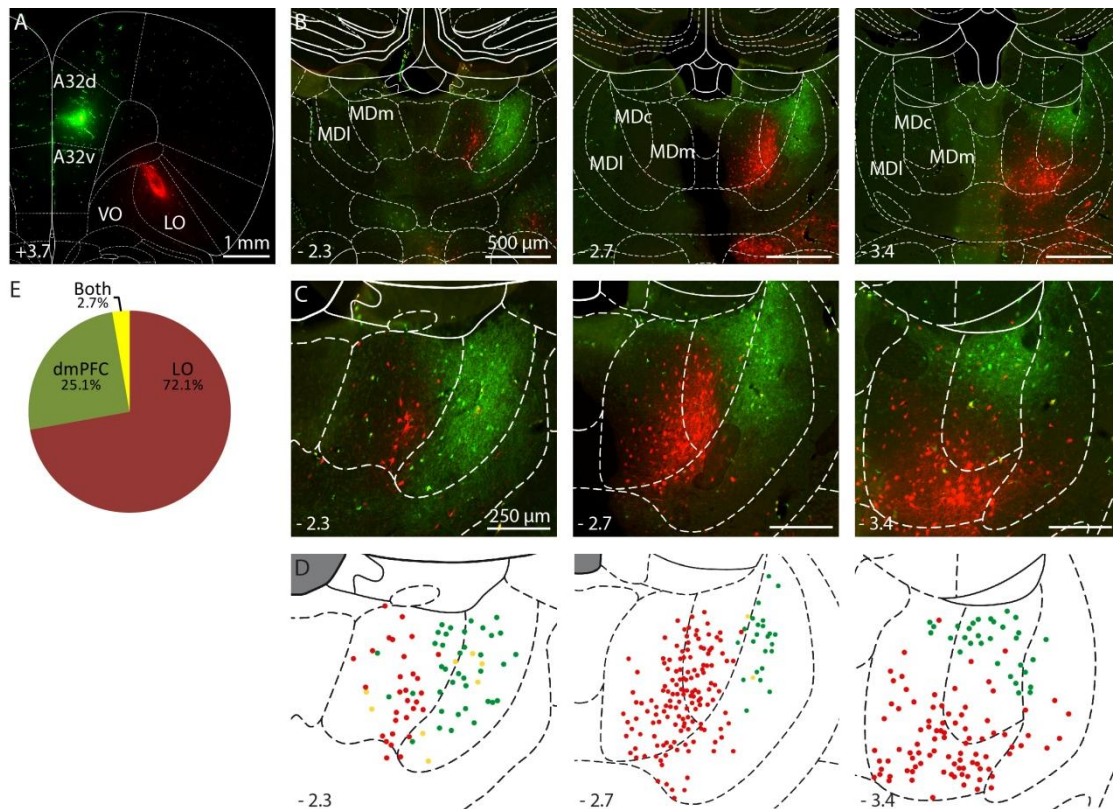


Figure 7. Dual injections in the dmPFC and the LO (case 33). A. Photomicrograph of FE injection in the dmPFC and of FR injection in LO in the same rat. B. Photomicrographs of the resulting labeling at 3 MD levels, -2.3, -2.7 and -3.4 relative to bregma (mm). C. Same photomicrograph than in B at higher magnification and corresponding schematics (D) that were used to produce semi-quantitative assessment (E). Cell counts correspond to points on the schematics.

2.3.2. Ventral mPFC and LO

Again, these areas are well separated so that there is no concern with any potential overlap between injections (Figure 8A).

The representative case 33 showed again very little, if any, evidence of cells that would be labeled by both tracers. Moderate levels of labeling for both tracers were visible throughout the rostrocaudal axis, in variable proportions. On the most rostral level examined, cells projecting to the vmPFC were clearly much more abundant than LO projecting cells ($n = 98$, 80% *versus* $n = 25$, 20%) (Figures 8B-D, left). However, at the intermediate level, both populations were found in equivalent proportions (vmPFC projecting cells: $n = 93$, 49% ; LO projecting cells: $n = 96$, 51%) (Figures 8B-D, middle). Finally, at the most caudal level, the

initial proportion was reversed with considerably more neurons projecting to the LO (n=126, 75%) than to the vmPFC (n = 41, 24%) (Figures 8B-D, right). Overall, the majority of the labeled cells were equally distributed between the ones projecting to the IL (48.0 %) or to the LO (51.6%) while less than 1% of neurons were found to be double labeled (Figure 8E). Similar to the previous case, the segregation of two different MD thalamic populations was even more pronounced with injections in the vmPFC and the LO. Interestingly, while the overall proportion of these cells was equivalent, there was a marked, inverse rostrocaudal gradient with essentially vmPFC projecting cells at the anterior level, essentially LO projecting cells at the posterior level and the same proportion in between.

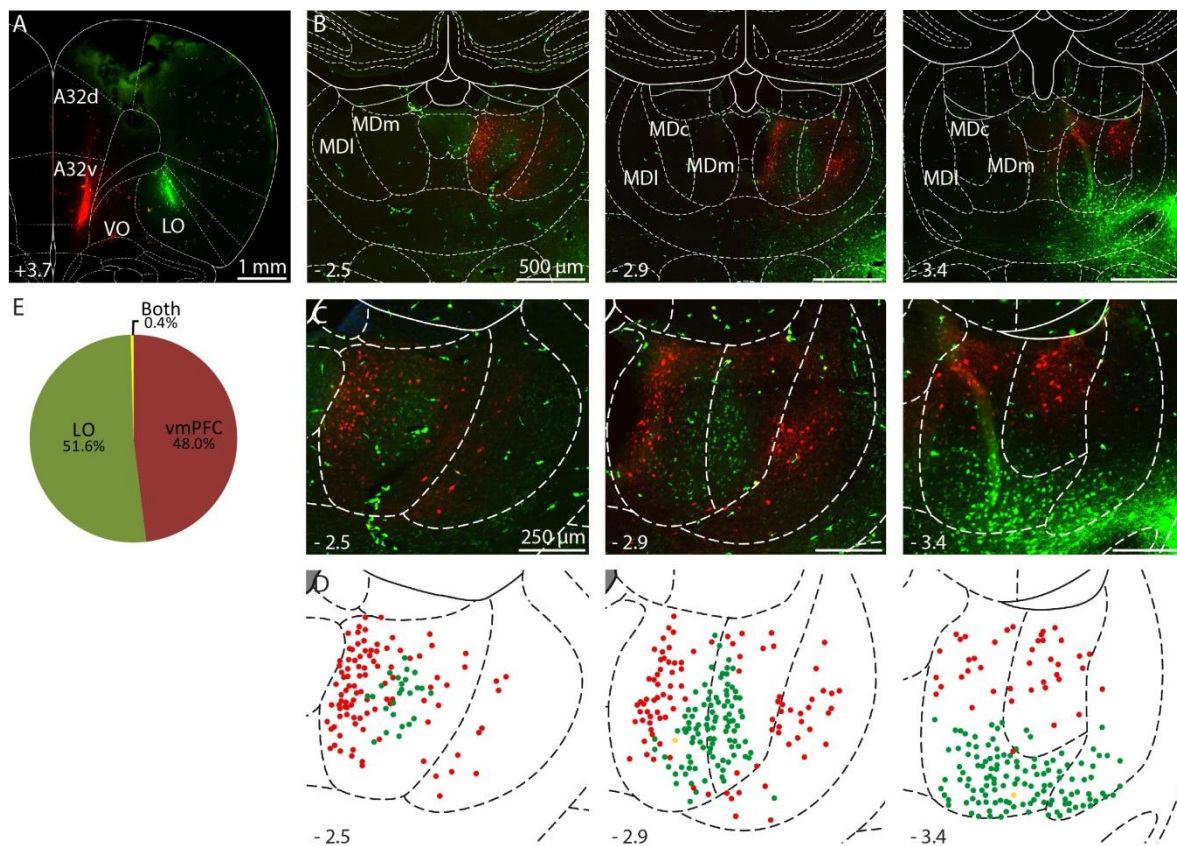


Figure 8. Dual injections in the vmPFC and the LO (case 30). A. Photomicrograph of FE injection in the LO and of FR injection in vmPFC in the same rat. B. Photomicrographs of the resulting labeling at 3 MD levels, -2.3, -2.7 and -3.4 relative to bregma (mm). C. Same photomicrograph than in B at higher magnification and corresponding schematics (D) that were used to produce semi-quantitative assessment (E). Cell counts correspond to points on the schematics.

3. Synthesis

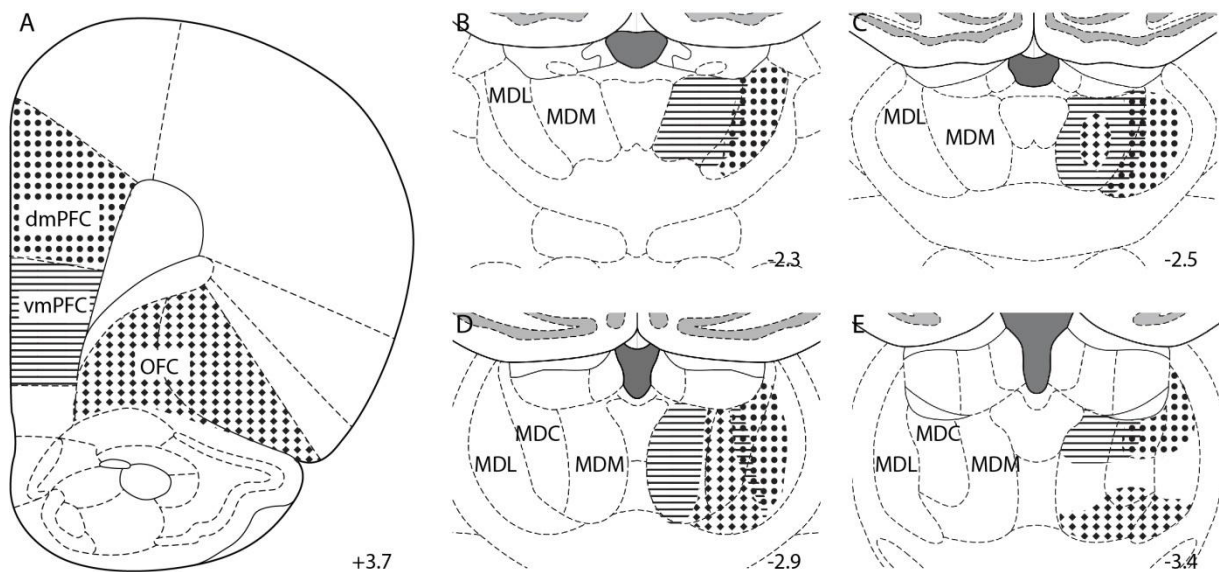


Figure 9. Summary diagrams of the topographical organization of the MD projections to the PFC on 4 MD levels, -2.3, -2.5, -2.9 and -3.4 relative to bregma. Outputs to the dmPFC are represented with triangles, to the vmPFC with horizontal lines and to the OFC with lozenges. See corresponding text for details.

Figure 9 summarizes the main different observations and, in particular, the origin of the parallel but essentially separate thalamic inputs to the different prefrontal areas. Indeed, markedly distinct patterns of ipsilateral thalamocortical projections were evident in the different subdivisions of the prefrontal and the orbitofrontal areas. Injections in the dorsal subdivision of the mPFC resulted in more lateral labeling in the MD than ventral mPFC injections, thus demonstrating the dorsolateral topography of MD-mPFC projections. By contrast, a highly homogeneous topography of thalamocortical projections was evident concerning the orbitofrontal area, with essentially overlapping neuronal populations projecting to the LO, the VO and even, in large proportions, to both areas.

Beyond this initial analysis, the most evocative result was probably that highly segregated populations of MD neurons were found to project to either the orbitofrontal or the prefrontal areas, demonstrating further that each major subdivision of the prefrontal cortex receives qualitatively distinct MD afferents.

Finally, these observations collectively converge to the identification of three distinct thalamocortical pathways innervating respectively the ventral and the dorsal part of the

mPFC as well as the full extent of the OFC, and originating for the most part from different thalamic neurons. These qualitative differences were supplemented on some occasions by substantial quantitative variations of the parallel MD inputs and in general, projections to the dorsal mPFC were less abundant than those to the ventral mPFC or the OFC.

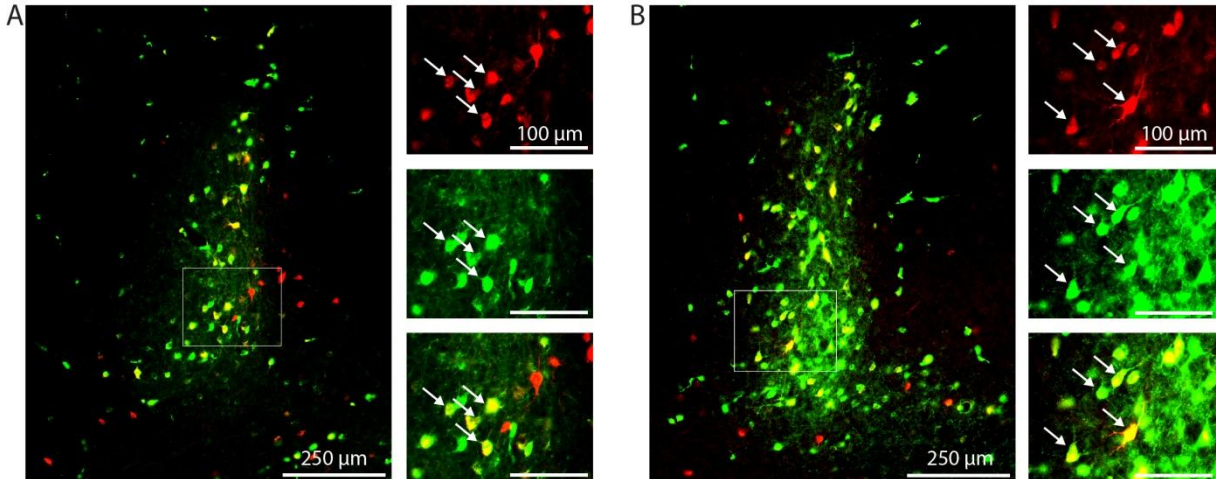


Figure 10. Photomicrograph of the MD showing the distribution of FR and FE labeled cells following an injection of FR in VO and FE in LO for cases 10 (A) and 12 (B). For each case, higher magnifications corresponding to the white area in for red, green and merged channels are available. The white arrow indicates an example of cell that was considered as doubled stained.

DISCUSSION

The main purpose of this study was to determine the architectural organization of thalamocortical projections from the mediodorsal thalamus to the different subdivisions of the prefrontal cortex, in the context of the new anatomical conception of the medial PFC region (Paxinos & Watson, 2014). By focusing exclusively on thalamic afferents provided by the MD to this area, it was possible to conduct a systemic examination of the pattern of labeling produced by dual tracer injections performed in the different subdivision of the prefrontal cortex. This strategy provided qualitative as well as semi-quantitative assessments of several thalamocortical pathways as they were directly compared to each other in the same animals. Three main findings emerge from this approach. First, there is a very clear mediolateral gradient characterizing the location of MD cells projecting to the mPFC; cells projecting to the dorsal subdivision are more lateral than those projecting to the ventral subdivision. There is no such segregation regarding cells projecting to the lateral and ventral quadrants of the OFC as they essentially overlap. Second, neuronal MD populations innervating the medial and the orbitofrontal portions of the PFC are clearly separated. Finally, a total of three distinct thalamoprefrontal pathways originating from the MD emerged from the present study. The corresponding thalamic populations were shown to innervate the vmPFC, the dmPFC or the OFC with very little overlap.

Methodological considerations

An evident methodological consideration in virtually any tracing study is the choice of the tracer given that all available molecules have specificities and more or less pronounced anterograde and/or retrograde tropism (Schofield, 2008). This issue becomes even more important when the purpose of the study is to directly compare labeling resulting from injections of different tracers. The dextrans used in the present study are available with different fluorescent markers attached to the same molecule, which, in theory, makes these tracers ideal for direct comparisons because they are expected to have the exact same retrograde tropism and should only differ by the fluorescent molecule attached to them. Indeed, the particular combination of dextrans used in the present study (ie. Fluoroemerald and Fluororuby) has previously been shown to provide robust and equivalent retrograde labeling (Choi *et al.*, 2002; Schofield *et al.*, 2007; Zele *et al.*, 2010), making it particularly well suited for comparative purposes. This method is the most common approach for identifying collateral projections (Schofield *et al.*, 2007). Of course, it can also be applied to

demonstrate, conversely, the segregation of cells labeled with either one or the other tracer, as previously shown with other thalamic circuits (Wright *et al.*, 2010; Yoder & Taube, 2011). Noticeably, the absence of double labeling using classic microscopy appears to be sufficient to support the major finding of the present study, namely that separate neuronal populations in the MD project in parallel to different subdivisions of the PFC.

Recent studies aimed at describing thalamocortical connectivity have emphasized the legitimate concern of regional specificity regarding tracer injections. Thus various neurochemical markers have been used to assist in the identification of the boundaries of the region of interest. For example, a recent study reported the elegant combination of parvalbumin immunoreactivity and connectional criteria to identify unambiguously the boundaries of the prelimbic (PL) and the infralimbic (IL) areas in the mouse (Matyas *et al.*, 2014). Unfortunately, this approach is not appropriate to define the borders for area A32/A24/A25 in the new terminology (Matyas *et al.*, 2014). By contrast, an earlier study provided considerable support for the view that area A32, the former PL area, can be subdivided in a dorsal and a ventral portion (Gabbott *et al.*, 2005). This point was largely taken up when the new terminology was first proposed (Vogt & Paxinos, 2014), and then finally adopted (Paxinos & Watson, 2014). Thus, regarding the medial prefrontal region, our study provides an analysis of the thalamocortical projections arising from the MD with a clear focus on this new dorsoventral differentiation.

The injection sites used in the present study generally encompassed all cortical layers, and we did not attempt to differentiate projections according to this criterion. However, there is no evidence of heterogeneity in projection neurons within the MD, and thalamocortical projections are known to essentially terminate in superficial cortical layers (Clasca *et al.*, 2012).

As regards the thalamic level, the boundaries of the different MD segments are not easily delineated. In this domain, unfortunately, specific neurochemical markers are currently lacking. The data available thus far indicate that calcium-binding proteins are either expressed in the whole MD (i.e. Calbindin) or not at all (i.e. Parvalbumin) (Rubio-Garrido *et al.*, 2007; Clasca *et al.*, 2012) Vesicular-glutamate transporters or choline-acetyltransferase are also expressed uniformly within the MD (Matyas *et al.*, 2014; Paxinos & Watson, 2014). However, in the present study, these boundaries were not drawn by the experimenter, but adapted from the atlas. The experimenter actually used the Hoechst counterstaining and

multiple anatomical landmarks to obtain the best possible fit between each micrograph and the diagrams provided by the atlas (see methods). This allowed us to pool data from several subjects while minimizing imprecision concerning the boundaries of subregion. The consistency of the present results furthermore attests the reliability of this method.

Comparison with the literature

In general the analysis of the single injections enabled to directly compare our results with those previously reported in the relevant literature, showing a large consistency between the different studies. Unlike corticothalamic projections (Negyessy *et al.*, 1998; Bradfield *et al.*, 2013), thalamocortical projections appear to be predominantly ipsilateral. Perhaps the most conserved feature across studies concerned the existence of a mediolateral gradient in the MD corresponding to cells projecting from dorsal to more ventral portions of the mPFC (Groenewegen, 1988; Conde *et al.*, 1990; Ray & Price, 1992; Hoover & Vertes, 2007).

Consistent with these earlier observations, we also noted that the most lateral thalamic labeling extended to the centrolateral and possibly the paracentral nuclei from the intralaminar group. Unlike in these studies however, we not only found vmPFC projecting cells in the medial segment of the MD but also slightly more laterally, at the boundary between the medial and the central segments, which could be due to a slight diffusion of the dextran in the most medial part of the VO in our study, as this specific area was previously shown to receive afferent from the MDc-MDI border (Groenewegen, 1988; Reep *et al.*, 1996). Finally, higher retrograde labeling has previously been observed after ventral, rather than dorsal mPFC injections (Conde *et al.*, 1995). Our semi-quantitative analysis confirmed this initial qualitative observation as we found about twice the amount of labeled cells in the MD in the former case.

Regarding the projections to the OFC, the observation that the MDc provides major afferents to the LO was also previously reported (Groenewegen, 1988; Ray & Price, 1992; Reep *et al.*, 1996). However, unlike in these studies, we did not find a dissociation between LO *versus* VO projecting MD cells. Actually, VO projecting cells were previously reported in the MDI while we only observed these cells in the central segment. Again, this difference is likely to arise from differential tracer injections as early studies clearly considered a more medial position for the VO than that considered for the present study (Groenewegen, 1988; Reep *et al.*, 1996). Additionally we cannot exclude entirely a partial overlap between LO and VO injections as these were clearly the most contiguous regions analyzed in the present work. It

is also worth mentioning that a valuable previous study considered an additional VLO region between the LO and the VO regions (Van De Werd & Uylings, 2008). As a result, in this latter study, the LO area is considerably more lateral than in the present study. It is certain that the cytoarchitectural structure of the orbitofrontal region may require updating and standardization, similar to the evolution observed for the medial PFC. For consistency, we have followed the same source than for the medial PFC (Paxinos & Watson, 2014). Another constant hallmark of the dextran injections in the orbitofrontal region was the dense labeling observed in the submedial nucleus (Figures 3B, 4B and 6B) consistent with a recent study showing that the latter region support some aspect of orbitofrontal functions (Alcaraz *et al.*, In press).

Finally, an important consideration for such tracing studies is the extent to which the general organization of the projections depicted can be transposed to other species and especially to humans. There are important differences in the structure of the cortex and the thalamus in rodents and primates which makes this task difficult. However, the data available in the monkey suggest that the existence of several parallel, yet separate MD-PFC pathways is highly conserved between species (Goldman-Rakic & Porrino, 1985; Ray & Price, 1993). In particular, the preferential innervation of the dmPFC by the lateral rather than the medial MD segments is also a classic feature of these thalamocortical projections in the monkey (Giguere & Goldman-Rakic, 1988). Interestingly, even imaging and diffusion tractography in both the macaques and human subjects point the existence of parallel and separate MD-PFC pathways, in particular between the mPFC and the OFC regions (Klein *et al.*, 2010). Therefore, it seems reasonable to postulate that the functional hypotheses that arise from the present analysis may be relevant beyond the rodent literature.

Functional implications

The MD has been the target of a considerable research effort over the past decades, bringing in a number of reviews aimed at deciphering the resulting experimental data and proposing various core functions for this region, such as working memory (Watanabe & Funahashi, 2012; Funahashi, 2013), recognition memory (Aggleton & Brown, 1999; 2006; Carlesimo *et al.*, 2011) or, more recently, instrumental learning and adaptive behaviors (Bradfield *et al.*, 2013; Balleine *et al.*, 2014). While a conceptual shift from a purely mnemonic to a more executive role for this region has emerged (Wolff *et al.*, 2015a), it is certain that classic data based primarily on lesion studies cannot all be easily reconciled.

Actually, for a better understanding of the functional outcome of MD lesions, one has to consider the prefrontal areas to which it projects. The dorsoventral subdivisions of the mPFC are certainly highly dissociable when it comes to functions. For example, the dorsal mPFC has long been associated with flexible (Block *et al.*, 2007; Floresco, 2013) or effortful cognition (Walton *et al.*, 2007; Holroyd & McClure, 2015) while the ventral subdivision may exert control over more emotional aspects of behavior (Radley *et al.*, 2006; Vertes, 2006). Interestingly, focusing on instrumental learning particularly emphasizes the functional relevance of such dorsoventral partition of the mPFC. The dorsal region critically supports the acquisition of controlled, goal-directed behaviors (Corbit & Balleine, 2003; Ostlund & Balleine, 2005; Coutureau *et al.*, 2009; Tran-Tu-Yen *et al.*, 2009) while the ventral region may be more specifically associated with habit formation (Killcross & Coutureau, 2003). Regarding the OFC region, a relatively well accepted view is that it integrates information about predictive cues, critical for flexible, outcome-based behaviors (Ostlund & Balleine, 2007b; a; Schoenbaum *et al.*, 2011; Takahashi *et al.*, 2013; McDannald *et al.*, 2014). Lesions to the MD produce impairments in many of the tasks supposed to tax these processes in instrumental (Corbit *et al.*, 2003; Mitchell *et al.*, 2007; Ostlund & Balleine, 2008; Alcaraz *et al.*, 2014; Parnaudeau *et al.*, 2014) and Pavlovian tasks (Ostlund & Balleine, 2008; Pickens, 2008). Thus, the impairments resulting from MD lesions often mirror those observed following damage to the corresponding prefrontal area, even though some discrepancies can also be found in the literature. Pickens (2008) for instance, reported an inconsistent pattern of impairments in instrumental and Pavlovian tasks following MD damage. This inconsistent pattern of impairments may directly derive from differential damage to the MD segments in the different batches of rats submitted to various tasks, resulting in an unreliable behavioral readout across experiments. Alternatively, the functional role of the MD may still remain to be properly defined. For instance, a role in specific attentional processes may be possible (Wolff *et al.*, 2015a; Wolff *et al.*, 2015b), so even if these processes are engaged during goal-directed or adaptive behaviors, the latter may not best correspond to the core of MD functions. Thus, the provisional picture that emerges from these lesion data is that the different pathways from the MD to the PFC can subserve different sets of adaptive processes. Based on the knowledge available thus far regarding cortical lesion data, one can suspect a role of the MDI-dmPFC pathway in supporting goal-directed behavior while the MDc-OFC may support specific aspects of

Pavlovian learning. Regarding the MDm-vmPFC pathways, weaker speculation based on the effect of vmPFC lesion may suggest a role in habits formation.

A direct way to assess the validity of this view would be to specifically target these pathways. The few studies conducted thus far have focused exclusively on the MD-dmPFC pathway and have shown an involvement of this pathway in executive (Block *et al.*, 2007) and adaptive behaviors (Izquierdo & Murray, 2010; Bradfield *et al.*, 2013; Browning *et al.*, 2015). Ironically, this pathway appeared in our study to be less important quantitatively than the MD-vmPFC and MD-OFC pathways, stressing the importance for a more systematic and selective functional assessments of these pathways. The availability of new intersectional approaches with complementary viral vectors enabling to reversibly inhibit neurons selected by their specific connectivity (Carter *et al.*, 2013; Gore *et al.*, 2013) appears ideal with this respect.

Conclusion

In conclusion, the present study clarifies the organization of parallel projections from the MD to the different subdivisions of the PFC. The dual tracer strategy employed and the resulting direct comparisons enabled us to characterize at least three parallel but essentially separate thalamocortical pathways. These pathways are expected to support dissociable functions; MD-mPFC connections are relevant for instrumental learning, with a possible further specialization in controlled *versus* habitual responding for the projections contacting the dorsal *versus* the ventral mPFC, while the MD-OFC projections may be fundamental for acquisition of Pavlovian associations. When reviewing the extensive literature available regarding MD lesions, this relative functional specialization of the different thalamocortical pathways may explain the difficulties to capture the core functions of the MD (Wolff *et al.*, 2015a). Determining if the MD effectively routes information according to content and target region could be achieved by targeting specifically each of the thalamocortical pathways, which certainly appears as a major prospect for future functional studies.

Acknowledgments

This work was supported by a grant from the French agency for research (ANR THALAME). The microscopy was done in the Bordeaux Imaging Centre a service unit of the CNRS-INSERM and Bordeaux University, member of the national infrastructure France BioImaging

with help from Christel Poujol and Sébastien Marais. We also thank Angélique Faugère and Yoan Salafranque for histological assistance and animal care.

References

- Aggleton, J.P. & Brown, M.W. (1999) Episodic memory, amnesia, and the hippocampal-anterior thalamic axis. *Behav Brain Sci*, **22**, 425-444; discussion 444-489.
- Aggleton, J.P. & Brown, M.W. (2006) Interleaving brain systems for episodic and recognition memory. *Trends Cogn Sci*, **10**, 455-463.
- Alcaraz, F., Marchand, A.R., Vidal, E., Guillou, A., Faugere, A., Coutureau, E. & Wolff, M. (In press) Flexible use of predictive cues beyond the orbitofrontal cortex: role of the submedial thalamic nucleus *J Neurosci*.
- Alcaraz, F., Naneix, F., Desfosses, E., Marchand, A.R., Wolff, M. & Coutureau, E. (2014) Dissociable effects of anterior and mediodorsal thalamic lesions on spatial goal-directed behavior. *Brain Struct Funct*.
- Balleine, B.W., Morris, R.W. & Leung, B.K. (2014) Thalamocortical integration of instrumental learning and performance and their disintegration in addiction. *Brain Res*.
- Bay, H.H. & Cavdar, S. (2013) Regional connections of the mediodorsal thalamic nucleus in the rat. *Journal of integrative neuroscience*, **12**, 201-219.
- Block, A.E., Dhanji, H., Thompson-Tardif, S.F. & Floresco, S.B. (2007) Thalamic-prefrontal cortical-ventral striatal circuitry mediates dissociable components of strategy set shifting. *Cereb Cortex*, **17**, 1625-1636.
- Bradfield, L.A., Hart, G. & Balleine, B.W. (2013) The role of the anterior, mediodorsal, and parafascicular thalamus in instrumental conditioning. *Frontiers in systems neuroscience*, **7**, 51.
- Browning, P.G., Chakraborty, S. & Mitchell, A.S. (2015) Evidence for Mediodorsal Thalamus and Prefrontal Cortex Interactions during Cognition in Macaques. *Cereb Cortex*.
- Carlesimo, G.A., Lombardi, M.G. & Caltagirone, C. (2011) Vascular thalamic amnesia: a reappraisal. *Neuropsychologia*, **49**, 777-789.
- Carter, M.E., Soden, M.E., Zweifel, L.S. & Palmiter, R.D. (2013) Genetic identification of a neural circuit that suppresses appetite. *Nature*, **503**, 111-114.
- Choi, D., Li, D. & Raisman, G. (2002) Fluorescent retrograde neuronal tracers that label the rat facial nucleus: a comparison of Fast Blue, Fluoro-ruby, Fluoro-emerald, Fluoro-Gold and Dil. *J Neurosci Methods*, **117**, 167-172.
- Clasca, F., Rubio-Garrido, P. & Jabaudon, D. (2012) Unveiling the diversity of thalamocortical neuron subtypes. *Eur J Neurosci*, **35**, 1524-1532.

- Conde, F., Audinat, E., Maire-Lepoivre, E. & Crepel, F. (1990) Afferent connections of the medial frontal cortex of the rat. A study using retrograde transport of fluorescent dyes. I. Thalamic afferents. *Brain Res Bull*, **24**, 341-354.
- Conde, F., Maire-Lepoivre, E., Audinat, E. & Crepel, F. (1995) Afferent connections of the medial frontal cortex of the rat. II. Cortical and subcortical afferents. *J Comp Neurol*, **352**, 567-593.
- Corbit, L.H. & Balleine, B.W. (2003) The role of prelimbic cortex in instrumental conditioning. *Behav Brain Res*, **146**, 145-157.
- Corbit, L.H., Muir, J.L. & Balleine, B.W. (2003) Lesions of mediodorsal thalamus and anterior thalamic nuclei produce dissociable effects on instrumental conditioning in rats. *Eur J Neurosci*, **18**, 1286-1294.
- Coutureau, E., Marchand, A.R. & Di Scala, G. (2009) Goal-directed responding is sensitive to lesions to the prelimbic cortex or basolateral nucleus of the amygdala but not to their disconnection. *Behav Neurosci*, **123**, 443-448.
- Floresco, S.B. (2013) Prefrontal dopamine and behavioral flexibility: shifting from an "inverted-U" toward a family of functions. *Frontiers in neuroscience*, **7**, 62.
- Funahashi, S. (2013) Thalamic mediodorsal nucleus and its participation in spatial working memory processes: comparison with the prefrontal cortex. *Frontiers in systems neuroscience*, **7**, 36.
- Gabbott, P.L., Warner, T.A., Jays, P.R., Salway, P. & Busby, S.J. (2005) Prefrontal cortex in the rat: projections to subcortical autonomic, motor, and limbic centers. *J Comp Neurol*, **492**, 145-177.
- Giguere, M. & Goldman-Rakic, P.S. (1988) Mediodorsal nucleus: areal, laminar, and tangential distribution of afferents and efferents in the frontal lobe of rhesus monkeys. *J Comp Neurol*, **277**, 195-213.
- Gilbert, S.J., Henson, R.N. & Simons, J.S. (2010) The Scale of Functional Specialization within Human Prefrontal Cortex. *J Neurosci*, **30**, 1233-1237.
- Goldman-Rakic, P.S. & Porrino, L.J. (1985) The primate mediodorsal (MD) nucleus and its projection to the frontal lobe. *J Comp Neurol*, **242**, 535-560.
- Gore, B.B., Soden, M.E. & Zweifel, L.S. (2013) Manipulating gene expression in projection-specific neuronal populations using combinatorial viral approaches. *Current protocols in neuroscience / editorial board, Jacqueline N. Crawley ... [et al.]*, **4**, 4 35 31-34 35 20.
- Groenewegen, H.J. (1988) Organization of the afferent connections of the mediodorsal thalamic nucleus in the rat, related to the mediodorsal-prefrontal topography. *Neuroscience*, **24**, 379-431.

- Holroyd, C.B. & McClure, S.M. (2015) Hierarchical control over effortful behavior by rodent medial frontal cortex: A computational model. *Psychological review*, **122**, 54-83.
- Hoover, W.B. & Vertes, R.P. (2007) Anatomical analysis of afferent projections to the medial prefrontal cortex in the rat. *Brain Struct Funct*, **212**, 149-179.
- Hoover, W.B. & Vertes, R.P. (2012) Collateral projections from nucleus reuniens of thalamus to hippocampus and medial prefrontal cortex in the rat: a single and double retrograde fluorescent labeling study. *Brain Struct Funct*, **217**, 191-209.
- Izquierdo, A. & Murray, E.A. (2010) Functional interaction of medial mediodorsal thalamic nucleus but not nucleus accumbens with amygdala and orbital prefrontal cortex is essential for adaptive response selection after reinforcer devaluation. *J Neurosci*, **30**, 661-669.
- Kaneko, T., Saeki, K., Lee, T. & Mizuno, N. (1996) Improved retrograde axonal transport and subsequent visualization of tetramethylrhodamine (TMR) -dextran amine by means of an acidic injection vehicle and antibodies against TMR. *J Neurosci Methods*, **65**, 157-165.
- Killcross, S. & Coutureau, E. (2003) Coordination of actions and habits in the medial prefrontal cortex of rats. *Cereb Cortex*, **13**, 400-408.
- Klein, J.C., Rushworth, M.F., Behrens, T.E., Mackay, C.E., de Crespigny, A.J., D'Arceuil, H. & Johansen-Berg, H. (2010) Topography of connections between human prefrontal cortex and mediodorsal thalamus studied with diffusion tractography. *NeuroImage*, **51**, 555-564.
- Koechlin, E. & Summerfield, C. (2007) An information theoretical approach to prefrontal executive function. *Trends Cogn Sci*, **11**, 229-235.
- Matyas, F., Lee, J., Shin, H.S. & Acsady, L. (2014) The fear circuit of the mouse forebrain: connections between the mediodorsal thalamus, frontal cortices and basolateral amygdala. *Eur J Neurosci*, **39**, 1810-1823.
- McDannald, M.A., Jones, J.L., Takahashi, Y.K. & Schoenbaum, G. (2014) Learning theory: a driving force in understanding orbitofrontal function. *Neurobiol Learn Mem*, **108**, 22-27.
- Mitchell, A.S., Browning, P.G. & Baxter, M.G. (2007) Neurotoxic lesions of the medial mediodorsal nucleus of the thalamus disrupt reinforcer devaluation effects in rhesus monkeys. *J Neurosci*, **27**, 11289-11295.
- Mitchell, A.S. & Chakraborty, S. (2013) What does the mediodorsal thalamus do? *Frontiers in systems neuroscience*, **7**, 37.

- Mitchell, A.S., Sherman, S.M., Sommer, M.A., Mair, R.G., Vertes, R.P. & Chudasama, Y. (2014) Advances in understanding mechanisms of thalamic relays in cognition and behavior. *J Neurosci*, **34**, 15340-15346.
- Negyessy, L., Hamori, J. & Bentivoglio, M. (1998) Contralateral cortical projection to the mediodorsal thalamic nucleus: origin and synaptic organization in the rat. *Neuroscience*, **84**, 741-753.
- Ostlund, S.B. & Balleine, B.W. (2005) Lesions of medial prefrontal cortex disrupt the acquisition but not the expression of goal-directed learning. *J Neurosci*, **25**, 7763-7770.
- Ostlund, S.B. & Balleine, B.W. (2007a) The contribution of orbitofrontal cortex to action selection. *Ann N Y Acad Sci*, **1121**, 174-192.
- Ostlund, S.B. & Balleine, B.W. (2007b) Orbitofrontal cortex mediates outcome encoding in Pavlovian but not instrumental conditioning. *J Neurosci*, **27**, 4819-4825.
- Ostlund, S.B. & Balleine, B.W. (2008) Differential involvement of the basolateral amygdala and mediodorsal thalamus in instrumental action selection. *J Neurosci*, **28**, 4398-4405.
- Parnaudeau, S., Taylor, K., Bolkan, S.S., Ward, R.D., Balsam, P.D. & Kellendonk, C. (2014) Mediodorsal Thalamus Hypofunction Impairs Flexible Goal-Directed Behavior. *Biol Psychiatry*.
- Paxinos, G. & Watson, C. (2014) *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*, San Diego.
- Pickens, C.L. (2008) A limited role for mediodorsal thalamus in devaluation tasks. *Behav Neurosci*, **122**, 659-676.
- Radley, J.J., Arias, C.M. & Sawchenko, P.E. (2006) Regional differentiation of the medial prefrontal cortex in regulating adaptive responses to acute emotional stress. *J Neurosci*, **26**, 12967-12976.
- Ray, J.P. & Price, J.L. (1992) The organization of the thalamocortical connections of the mediodorsal thalamic nucleus in the rat, related to the ventral forebrain-prefrontal cortex topography. *J Comp Neurol*, **323**, 167-197.
- Ray, J.P. & Price, J.L. (1993) The organization of projections from the mediodorsal nucleus of the thalamus to orbital and medial prefrontal cortex in macaque monkeys. *J Comp Neurol*, **337**, 1-31.
- Reep, R.L., Corwin, J.V. & King, V. (1996) Neuronal connections of orbital cortex in rats: topography of cortical and thalamic afferents. *Exp Brain Res*, **111**, 215-232.

- Robbins, T.W. (1996) Dissociating executive functions of the prefrontal cortex. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, **351**, 1463-1470; discussion 1470-1461.
- Rose, J.E. & Woolsey, C.N. (1948) The orbitofrontal cortex and its connections with the mediodorsal nucleus in rabbit, sheep and cat. *Research publications - Association for Research in Nervous and Mental Disease*, **27 (1 vol.)**, 210-232.
- Rubio-Garrido, P., Perez-de-Manzo, F. & Clasca, F. (2007) Calcium-binding proteins as markers of layer-I projecting vs. deep layer-projecting thalamocortical neurons: a double-labeling analysis in the rat. *Neuroscience*, **149**, 242-250.
- Schoenbaum, G., Takahashi, Y., Liu, T.L. & McDannald, M.A. (2011) Does the orbitofrontal cortex signal value? *Annals of the New York Academy of Sciences*, **1239**, 87-99.
- Schofield, B.R. (2008) Retrograde axonal tracing with fluorescent markers. *Current protocols in neuroscience / editorial board, Jacqueline N. Crawley ... [et al.]*, **Chapter 1**, Unit 1 17.
- Schofield, B.R., Schofield, R.M., Sorensen, K.A. & Motts, S.D. (2007) On the use of retrograde tracers for identification of axon collaterals with multiple fluorescent retrograde tracers. *Neuroscience*, **146**, 773-783.
- Smith, E.E. & Jonides, J. (1999) Storage and executive processes in the frontal lobes. *Science*, **283**, 1657-1661.
- Takahashi, Y.K., Chang, C.Y., Lucantonio, F., Haney, R.Z., Berg, B.A., Yau, H.J., Bonci, A. & Schoenbaum, G. (2013) Neural estimates of imagined outcomes in the orbitofrontal cortex drive behavior and learning. *Neuron*, **80**, 507-518.
- Tran-Tu-Yen, D.A., Marchand, A.R., Pape, J.R., Di Scala, G. & Coutureau, E. (2009) Transient role of the rat prelimbic cortex in goal-directed behaviour. *Eur J Neurosci*, **30**, 464-471.
- Van De Werd, H.J. & Uylings, H.B. (2008) The rat orbital and agranular insular prefrontal cortical areas: a cytoarchitectonic and chemoarchitectonic study. *Brain Struct Funct*, **212**, 387-401.
- Vertes, R.P. (2006) Interactions among the medial prefrontal cortex, hippocampus and midline thalamus in emotional and cognitive processing in the rat. *Neuroscience*, **142**, 1-20.
- Vogt, B.A. & Paxinos, G. (2014) Cytoarchitecture of mouse and rat cingulate cortex with human homologies. *Brain Struct Funct*, **219**, 185-192.
- Walton, M.E., Rudebeck, P.H., Bannerman, D.M. & Rushworth, M.F. (2007) Calculating the cost of acting in frontal cortex. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **1104**, 340-356.

- Watanabe, Y. & Funahashi, S. (2012) Thalamic mediodorsal nucleus and working memory. *Neurosci Biobehav Rev*, **36**, 134-142.
- Wilson, C.R., Gaffan, D., Browning, P.G. & Baxter, M.G. (2010) Functional localization within the prefrontal cortex: missing the forest for the trees? *Trends Neurosci*, **33**, 533-540.
- Wolff, M., Alcaraz, F., Marchand, A.R. & Coutureau, E. (2015a) Functional heterogeneity of the limbic thalamus: From hippocampal to cortical functions. *Neurosci Biobehav Rev*, **54**, 120-130.
- Wolff, M., Faugere, A., Desfosses, E., Coutureau, E. & Marchand, A.R. (2015b) Mediodorsal but not anterior thalamic nuclei lesions impair acquisition of a conditional discrimination task. *Neurobiol Learn Mem*, **125**, 80-84.
- Wright, N.F., Erichsen, J.T., Vann, S.D., O'Mara, S.M. & Aggleton, J.P. (2010) Parallel but separate inputs from limbic cortices to the mammillary bodies and anterior thalamic nuclei in the rat. *J Comp Neurol*, **518**, 2334-2354.
- Yoder, R.M. & Taube, J.S. (2011) Projections to the anterodorsal thalamus and lateral mammillary nuclei arise from different cell populations within the postsubiculum: implications for the control of head direction cells. *Hippocampus*, **21**, 1062-1073.
- Zelev, T., Sketelj, J. & Bajrovic, F.F. (2010) Efficacy of fluorescent tracers in retrograde labeling of cutaneous afferent neurons in the rat. *J Neurosci Methods*, **191**, 208-214.

Chapitre III : Connectivité fonctionnelle des boucles thalamocorticales

L'enseignement majeur du travail d'anatomie descriptive que nous avons entrepris est l'existence de multiples voies issues du thalamus médiodorsal, qui prennent leurs origines dans des populations de neurones thalamiques essentiellement ségréguées et qui innervent de façon spécifique le cortex préfrontal dorsomédian et le cortex orbitofrontal. Ce constat apporte un éclairage nouveau sur les approches interventionnistes affectant globalement l'ensemble du thalamus médiodorsal, dont le rôle est raisonnablement bien établi dans les contingences instrumentales (Corbit et al., 2003 ; Mitchell et al., 2007 ; Parnaudeau et al., 2014 ;) mais également Pavloviennes (Ostlund et Balleine, 2008, Pickens, 2008). Ainsi, nous avons formulé l'hypothèse que **les projections issues du segment latéral du médiodorsal qui connectent cette région avec la partie dorsomédiane du cortex préfrontal pourraient jouer un rôle spécifique dans la représentation et l'utilisation des contingences instrumentales**. Pour tester expérimentalement cette hypothèse, nous avons procédé à certains développements méthodologiques visant (1) à raffiner les protocoles comportementaux permettant d'étudier la représentation de la valeur et de la contingence dans le cadre de l'apprentissage instrumental et (2) à valider une approche interventionniste permettant d'invalider de façon transitoire et faiblement invasive les neurones sélectionnés sur la base de leurs projections spécifiques.

Nous présentons donc successivement dans le cadre de ce chapitre une expérience originale nous ayant permis de valider les protocoles comportementaux avant d'explicitier la stratégie interventionniste. Les résultats principaux qui sont actuellement sous une forme avancée, mais toujours préliminaires, seront illustrés par le poster présenté récemment à l'occasion du dernier congrès de la *Society for Neuroscience* à Chicago et dont les résultats principaux seront ensuite récapitulés.

1) Méthodes d'étude du contrôle de l'action par le conditionnement instrumental

Une partie fondamentale de mon travail de thèse a consisté à valider les protocoles comportementaux permettant d'étudier les processus adaptatifs à la base de la prise de décision, en évaluant par des épreuves spécifiques la représentation de la valeur (d'une action ou d'un stimulus) ou des contingences (instrumentales ou Pavloviennes). Cette validation s'est faite sur la base d'une réflexion sur le choix de certains paramètres opérationnels qui ont des implications profondes au plan théorique et dont je vais brièvement présenter les principaux tenants.

1) Paramètres expérimentaux

a) Ordre des protocoles instrumentaux

Nous désirons être en mesure de manipuler la représentation de la valeur et de la contingence chez les mêmes animaux. La question se pose donc de déterminer l'ordre de présentation des expériences de dévaluation et de dégradation. De fait, le protocole de dégradation de contingence vise à provoquer une mise à jour des relations action-récompense qui pourrait interférer avec la représentation de la valeur. De plus, l'utilisation d'une dévaluation par satiété lors de la phase de dévaluation nous assure du caractère éphémère du changement de valeur de la récompense, et l'on peut raisonnablement escompter qu'après quelques séances de réacquisition, il soit possible de procéder à un protocole de dégradation de la contingence dans de bonnes conditions. Pour ces raisons, après apprentissage instrumental, la phase de dévaluation est donc placée avant la phase de dégradation de la contingence.

b) Choix des manipulanda

Un point plus fondamental et moins évident de prime abord concerne le choix des *manipulanda*. Classiquement, les études instrumentales utilisent deux leviers identiques placés de part et d'autre de la mangeoire (Corbit et Balleine, 2003 ; Corbit, Muir et Balleine,

2003 ; Ostlund et Balleine, 2007b, 2008b). Il en découle une incertitude quant à ce que l'animal va réellement représenter lors de l'apprentissage. Est-ce que ces deux actions qui lui sont proposées diffèrent réellement au plan qualitatif ou bien s'agit-il de la même action, qu'il peut effectuer à deux endroits différents ? En termes associatifs, la réponse à cette question nous semble importante. Pour y répondre, nous avons, outre le levier, introduit un autre *manipulandum*, dont les propriétés intrinsèques diffèrent drastiquement de celles du levier. Il s'agit d'un « tilt », soit une petite boule fixée sur une tige verticale qui est fixé au « plafond » de la chambre de conditionnement, et que l'animal peut enclencher en la poussant dans n'importe quelle direction. Ainsi, les deux actions à effectuer diffèrent de façon inhérente et sont donc nécessairement dissociées dans le cadre des associations R-O que l'animal va encoder. Pour valider la pertinence de ce choix, nous présentons dans le cadre de ce chapitre une expérience originale menée sur un groupe de rats intacts auxquels ont été proposées les procédures de dévaluation et de dégradation de la contingence instrumentale après la phase d'apprentissage instrumentale menée à l'aide de ces deux *manipulanda*.

2) Matériel et méthodes

Animaux et condition d'animalerie

16 rats Long Evans du centre d'élevage Janvier, pesant 275g-300g, ont été utilisés pour ces expériences. A leur arrivée, les rats sont placés dans une animalerie à une température de $22 \pm 1^\circ\text{C}$, selon un cycle nyctéméral non inversé 12h/12h. Les animaux ont accès *ad libitum* à l'eau et leur cage est enrichie par la présence d'un tube en polycarbonate, où ils sont placés par paires. Toutes les expériences se déroulent lors de la période d'éclairage, de 7h à 19h. Pendant l'ensemble des expériences, les rats sont placés en restriction alimentaire. Ils reçoivent 15g de nourriture chacun par jour, afin de les maintenir à environ 90 % de leurs poids de base.

Appareil

L'ensemble des expériences a lieu dans des cages de conditionnement (40 cm de large x 30 cm de profondeur x 35 cm de haut, Imetronic, France), contenues dans des enceintes imperméables aux sons et à la lumière extérieure (74 x 56 x 40 cm). Les cages sont

équipées d'un ventilateur produisant un fond sonore de 55 dB et de 4 LEDs fixées au plafond pour l'illumination de la cage. Le sol des cages consistait en des barreaux en métal gris de diamètre 0,5 cm et séparés de 1,5 cm. Une mangeoire est disposée au centre du panneau de droite (6 x 4.5 x 4.5 cm) pouvant recevoir des pellets de grain (45 mg, F0165, BioServ, NJ, USA) ou de sucrose (45mg, TestDiet,) grâce à des distributeurs situés à l'extérieur de la cage. Les mangeoires sont équipées de cellules photosensibles permettant la détection des visites à la mangeoire. Un levier rétractable (4 x 2 x 1 cm) est situé à droite de la mangeoire, et un « tilt » démontable (ou un deuxième levier identique au premier) est situé à gauche de la mangeoire. Les équipements et les données sont contrôlés et enregistrés par un ordinateur, connecté aux cages *via* une interface Imetronic et équipé du logiciel POLY_PROG (Imetronic, France).

Habituation à la mangeoire

Les rats effectuent d'abord 4 sessions journalières d'habituation à la mangeoire. Chaque session dure 30 minutes et consiste en la distribution aléatoire de 30 récompenses alimentaires (grain ou sucrose, deux fois pour chaque récompense).

Apprentissage instrumental

Les animaux effectuent ensuite 7 sessions d'apprentissage instrumental. Durant ces sessions, l'animal doit apprendre à appuyer sur un levier ou un « tilt » pour obtenir soit du grain, soit du sucrose. Ainsi, au cours des sessions d'apprentissage, le rat a appris à associer chaque action avec la distribution d'une récompense spécifique. Lors de la phase d'apprentissage, différents programmes d'entraînement sont utilisés successivement, à savoir trois séances initiales en « ratio fixe 1 » (FR1, chaque appui est récompensé), suivies de deux séances en « ratio aléatoire 5 » (RA 5, 5 appuis en moyenne permettent l'obtention d'une récompense) et enfin de deux séances en « ratio aléatoire 10 » (RA 10, 10 appuis en moyenne permettent l'obtention d'une récompense). Ce type de procédure est classique et permet de produire un comportement d'appui robuste, signe que l'animal a correctement encodé la contingence entre l'actionnement du *manipulandum* et l'obtention de la récompense. Une session dure jusqu'à ce que 30 récompenses soient obtenues ou que 30 minutes soient écoulées. Pendant la phase d'apprentissage, les actions (et donc les récompenses) ne sont jamais présentées de façon concurrente : une session complète se

déroule donc sur deux jours, un jour pour la première association (exemple : Tilt - Grain) et un deuxième jour pour la deuxième association (exemple : Levier - Sucrose). Chaque association action-récompense a été contrebalancée sur l'ensemble des individus et tous les cas sont équiprobablement représentés pour chaque session.

Dévaluation instrumentale

Au terme de l'apprentissage, les animaux ont effectué un test de dévaluation instrumental. Le jour précédent le test, les animaux sont placés pendant 20 min dans des cages sans litière contenant une coupelle dans laquelle sont disposés quelques exemplaires des deux récompenses. Cette manipulation vise à habituer les animaux à l'ensemble du contexte dans lequel la phase de dévaluation par satiété sélective est effectuée, afin de s'assurer que les animaux consomment bien la récompense qui sera alors mise à leur disposition le jour suivant. Pour ce faire, les animaux sont alors placés pendant une heure dans les cages de dévaluation en présence de 15g de l'une des deux récompenses. Les animaux ont donc la possibilité de consommer à volonté cette récompense ce qui doit donc induire une satiété sélective. Immédiatement après, les rats sont placés dans les cages de conditionnement pour un test qui se déroule en conditions d'extinction pendant 15 minutes durant lesquelles, pour la première fois, les deux *manipulanda* sont présentés de façon concurrente. Comme les actions effectuées sur ces *manipulanda* ne sont pas récompensées (conditions d'extinction), les choix effectués par les animaux sont guidés uniquement par ce qu'ils représentent, en particulier en ce qui concerne la valeur relative de chacune de ces actions. A l'issue de ce test, les animaux sont replacés dans les cages de dévaluation pour un test de consommation afin de vérifier l'efficacité de la procédure de satiété relative dans des conditions où les animaux ont effectivement accès aux deux récompenses. Les rats sont d'abord nourris avec 5 g d'une des deux récompenses, puis 5 g de l'autre, à chaque fois pendant 15 min. Deux tests de dévaluation sont faits, séparés par une session de réentraînement en RA 10, afin que chacune des deux récompenses soit dévaluée une fois.

Dégradation instrumentale

Avant d'entamer la procédure de dégradation instrumentale, les animaux sont réentraînés lors d'une session de RA 10. Ensuite, les rats ont effectué 4 sessions de dégradation instrumentale. Comme pour l'apprentissage instrumental, une session complète

se déroule sur deux jours, le premier correspondant à l'association dont la contingence est dégradée tandis que pour le deuxième, l'association dont la contingence est préservée consiste en une séance de RA 10 conduite à l'identique de l'apprentissage initial. Pour la condition dégradée, une des deux récompenses est dorénavant distribuée « gratuitement », l'animal n'ayant plus besoin d'effectuer l'action qui lui est associée. La distribution des récompenses dégradées est calculée sur les performances de l'animal lors de la dernière séance d'entraînement, i.e. si l'animal a obtenu les 30 récompenses en 10 minutes lors de la séance d'entraînement, il les obtiendra également en 10 minutes et environ au même moment lors de la séance de dégradation. A nouveau, l'ensemble des cas possibles est contrebalancé en fonction des individus chaque jour. A l'issue des sessions de dégradation, les animaux ont effectué un nouveau test en extinction de 15 min, avec les deux actions disponibles mais non récompensées.

Analyse statistique

Dans tous les cas, les analyses portent sur le nombre d'actions par minute, que ce nombre soit absolu ou exprimé relativement au niveau asymptotique de la phase d'entraînement instrumental (dernière session). Il est procédé à des analyses de variance (ANOVA) avec le facteur Session en mesures répétées et les facteurs Action (Lever, Tilt) ou éventuellement Récompense (Grain, Sucrose) avec un seuil de significativité pour l'hypothèse nulle fixée à 5%.

3) Résultats

Apprentissage instrumental

La Figure **41A** montre que le nombre d'actions effectuées par minute de l'ensemble des animaux augmente progressivement au cours des différentes sessions de la phase d'apprentissage, ce qui est attesté par l'existence d'un effet Session ($F(6,84) = 176.14$, $P < 0.0001$). Toutefois, si le nombre d'actions produites par unité de temps est sensiblement équivalent en début d'apprentissage, le niveau asymptotique est supérieur pour les appuis sur le levier. Cette observation est supportée par l'existence d'un effet significatif du facteur Action ($F(1,14) = 7.43$, $P = 0.016$) ainsi que par l'existence d'une interaction significative entre les facteurs Action et Session ($F(6,84) = 2.48$, $P = 0.029$). Cela étant, l'apprentissage

semble bien effectif pour les deux actions comme en témoigne l'effet significatif du facteur Session dans les deux cas ($P_s < 0.0001$). Par ailleurs, nous avons pu vérifier à l'occasion de cette phase d'apprentissage que les deux récompenses (pastilles de type « grain » ou « sucrose ») semblent également appétentes comme le suggèrent l'absence d'effet significatif du facteur Récompense ($F(1,14) = 1.27, P = 0.28$) et l'absence d'interaction Récompense X Session significative ($F < 1$).

En résumé, l'apprentissage instrumental semble normal pour les deux actions mais les analyses, ainsi que nos propres observations suggèrent que l'appui sur le levier est plus facile à exécuter que l'actionnement du tilt, ce qui expliquerait la différence de performance en fin d'entraînement pour les deux actions. Pour cette raison, il est nécessaire d'évaluer les performances des animaux lors des tests suivants relativement à une valeur de base correspondant à la dernière session d'entraînement (% par rapport aux valeurs obtenues lors de cette dernière session).

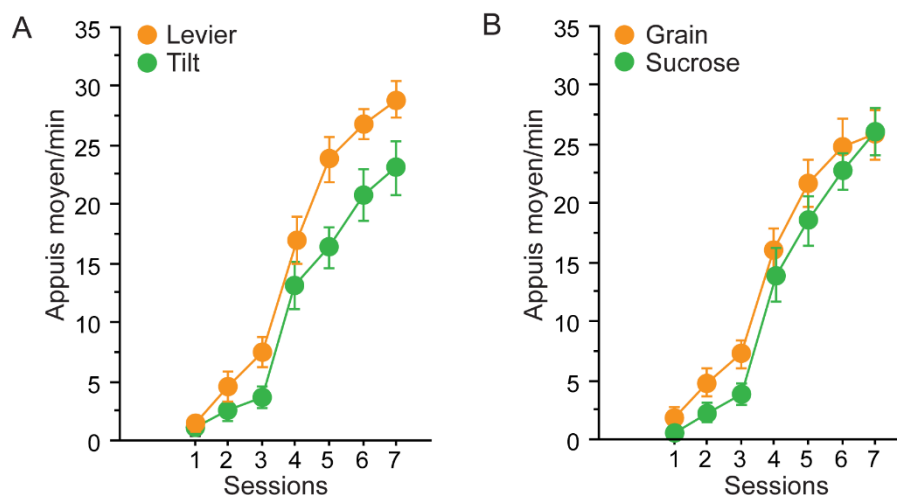


Figure 41 : (A) Nombre moyen d'appuis/min au cours des sessions d'entraînement instrumentale selon le type d'action et (B) selon la nature de la récompense.

Dévaluation instrumentale

En ce qui concerne le test conduit en extinction immédiatement après la séance de consommation visant à établir une satiété sensori-spécifique, il n'y a pas de différence particulière à noter concernant les deux actions. Dans les deux cas, les animaux privilégient largement les actions permettant d'obtenir la récompense non dévaluée. Cette analyse est supportée par l'existence d'un effet significatif du facteur Déévaluation ($F(1,14) = 42.7, p < 0.0001$) tandis que le facteur Action ne produit pas d'effet particulier ($F(1,14) = 2.58, P = 0.013$). De même, l'interaction Déévaluation X Action n'est pas significative ($F(1,14) = 2.50, P =$

0.14), ce qui est en accord avec l'idée que le processus de dévaluation se déroule de façon similaire quelle que soit l'action permettant d'obtenir la récompense dévaluée.

Dans leur ensemble, ces résultats indiquent donc clairement que les animaux sont capables d'adapter leurs actions à la nouvelle valeur de la récompense, quelle que soit l'action correspondant à la récompense dévaluée.

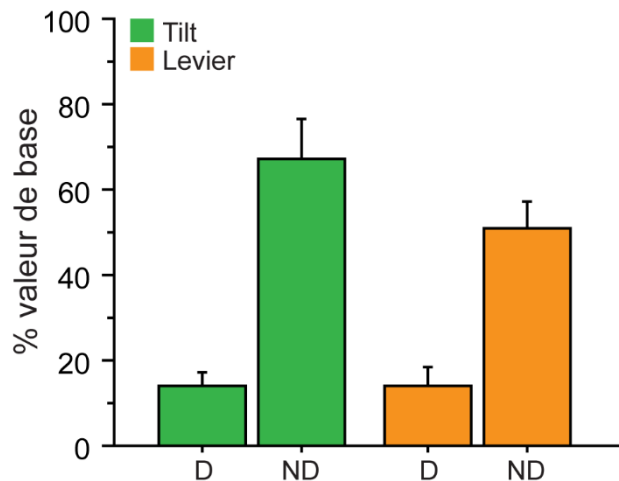


Figure 42 : % d'appuis moyen/min par rapport à la valeur de base lors des 5 premières minutes du test en extinction selon le manipuludum et en fonction de la condition dévaluée ou non dévaluée.

Dégradation instrumentale

Un animal a cessé d'actionner le tilt lors des sessions de réentraînement suivant le test en extinction, nous n'avons donc pas collecté de données pour cet animal ($n = 15$). La procédure de dégradation produit la réponse adaptative escomptée, à savoir une diminution sélective de l'action dont la contingence a été dégradée, et ce quel que soit le *manipulandum* dégradé Figure 43A. Cette observation est supportée par l'existence d'un effet significatif des facteurs Dégradation ($F(1,12) = 30.08$, $P < 0.0001$) et Session ($F(3,36) = 12.06$, $P < 0.0001$) ainsi que, de façon critique par l'existence d'une interaction Dégradation X Action significative ($F(3,36) = 13.97$, $P < 0.0001$). Par ailleurs, ni l'effet du facteur Action, ni l'interaction Action X Dégradation ne sont significatifs (Action ($F(1,12) = 2.52$, $P = 0.14$; Action X Dégradation, $F < 1$) confirmant un processus similaire quelle que soit l'action dont la contingence est dégradée. L'existence d'une interaction Action X Session significative ($F(3,36) = 5.86$, $p = 0.002$) résulte très probablement d'un taux d'appui sur le levier initialement faible en condition non dégradée mais là encore, n'est pas de nature à envisager une dégradation différentielle selon l'action considérée, d'autant plus que

l'interaction triple n'est pas significative (Action X Dégradation X Session, ($F(3,36) = 2.08$, $P = 0.12$).

Test en extinction

Le test réalisé en extinction, dans des conditions où les deux actions sont présentes de façon concurrente, confirme largement les données obtenues lorsque les récompenses sont distribuées (Figure 43B). Ainsi l'effet du facteur Dégradation est bien significatif ($F(1,13) = 8.47$, $P = 0.012$) mais ni le facteur Action ni l'interaction Action X Dégradation ne produisent d'effet notable ($F_s < 1$).

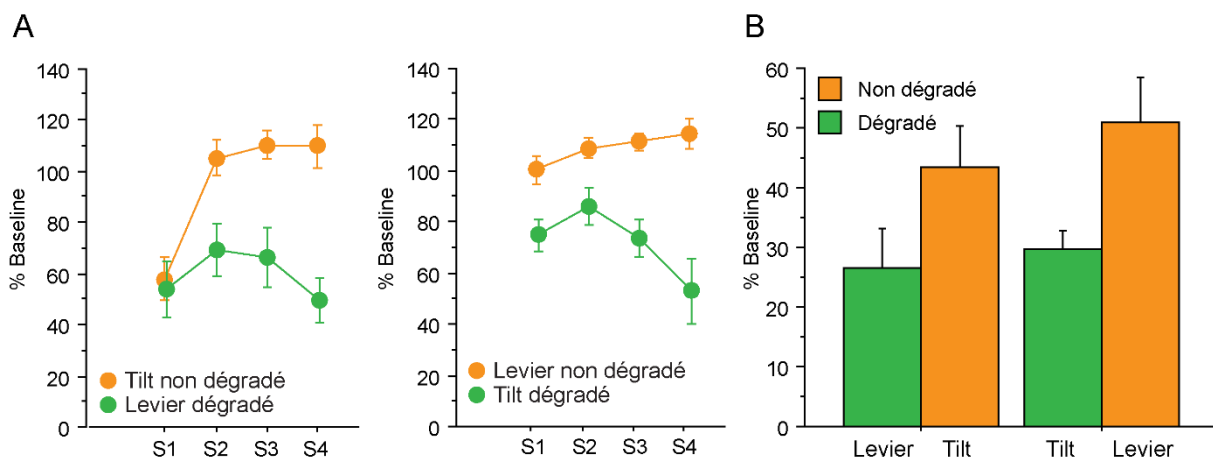


Figure 43 : (A) % d'appuis moyens par rapport à la valeur de base sur les deux actions selon que le levier est dégradé (gauche), ou que le tilt est dégradé (droite). (B) % d'appuis moyens par rapport à la valeur de base lors des 5 premières minutes du test en extinction sur les deux actions selon que le levier ou que le tilt est dégradé.

4) Conclusion

Au vu de l'ensemble de ces résultats, il est clair que les protocoles employés permettent effectivement d'étudier les réponses adaptatives qui sont mises en place lorsque l'on manipule soit la valeur de la récompense, soit la relation de contingence entre une action et la récompense qui lui est associée. Au vu de nos résultats, l'emploi de deux *manipulanda* permet donc effectivement d'étudier chez le Rat les processus plus classiquement étudiés à l'aide de deux leviers et le comportement que nous avons pu observer dans ces conditions présente toutes les caractéristiques de l'action dirigée vers un but. Ce sont donc ces protocoles qui ont été utilisés pour évaluer l'impact fonctionnel d'une

inhibition sélective de certains éléments des circuits thalamocorticaux selon la stratégie décrite dans la partie suivante.

II) Inhibition sélective de neurones sélectionnés par leurs projections spécifiques

Pour évaluer la contribution fonctionnelle des différentes voies thalamocorticales issues du thalamus médiodorsal mises en évidence par les approches d'anatomie descriptive, il est nécessaire de pouvoir identifier les neurones thalamiques qui en sont à l'origine, pour pouvoir invalider leur fonctionnement, idéalement de manière transitoire et réversible. Pour répondre à ce cahier des charges, nous avons mis en place une approche pharmacogénétique innovante reposant sur l'utilisation combinée de vecteurs viraux dont les propriétés sont complémentaires.

1) Approche pharmacogénétique

L'approche pharmacogénétique a été retenue car (1) elle est relativement aisée à mettre en place, (2) elle a l'avantage d'être faiblement invasive, (3) elle a des caractéristiques temporelles adaptées à nos protocoles expérimentaux et (4) elle repose sur des mécanismes d'inhibition cellulaire physiologiques. Cette approche repose sur l'expression du récepteur muscarinique humain muté dans les cellules d'intérêt. Cette mutation fait perdre au récepteur toute affinité pour son ligand naturel, l'acétylcholine, au profit d'un ligand exogène, la clozapine n-oxide (CNO), d'où l'acronyme DREADD (« Designer Receptors Exclusively Activated by Designer Drugs ») attribué à l'approche pharmacogénétique (Armbruster et al., 2007). Différents types de DREADD sont disponibles pour soit inhiber, soit activer la cellule exprimant le récepteur par des mécanismes moléculaires contrôlés par les protéines G (Gi/Gq). Ainsi, l'utilisation d'un DREADD hM4Di, stimulant une protéine Gi, aura pour effet d'inhiber la cellule qui l'exprime lors de la fixation du CNO (Alexander et al., 2009 ; Armbruster et al., 2007). L'action du CNO durant au moins 2 ou 3 heures, son injection permet de manipuler les neurones sur des durées compatibles avec des expériences de comportement, mêmes longues, après une simple injection

intrapéritonéale puisque cette molécule passe la barrière hématoencéphalique (Wess, Nakajima et Jain, 2013). Il résulte de cette dernière propriété le caractère peu invasif de la méthode et son intérêt par rapport aux méthodes optogénétiques beaucoup plus contraignantes de ce point de vue (implantation d'une fibre optique nécessitant un matériel comportemental adapté), en plus de la difficulté à maintenir une inhibition prolongée pendant plusieurs dizaines de minutes par stimulation lumineuse (Deng et al., 2014).

2) Cibler une population neuronale sur la base de ses projections spécifiques

Ces dernières années, les méthodes d'analyse au niveau des circuits ont largement évolué de par la disponibilité de multiples outils reposant sur des vecteurs viraux dont les propriétés sont complémentaires. Dans le cadre de notre problématique, les cellules d'intérêt sont les neurones thalamiques qui projettent vers le cortex préfrontal médian. Pour inhiber de façon spécifique ces neurones thalamiques par une approche pharmacogénétique, nous devons donc mettre en place une stratégie d'expression conditionnelle du DREADD inhibiteur. Ce type de stratégies conditionnelles a été largement popularisé par le **système Cre-lox**, qui consiste à insérer un gène d'intérêt dans le génome viral dans le sens contraire du cadre de lecture, ce qui empêche sa transcription par la cellule hôte (Wouterlood et al., 2014). Ce même gène est bordé par deux sites *loxP* (il est dit « *floxé* »). Ces sites sont reconnus par une enzyme catalytique, la Cre recombinase, qui, de par son action sur les sites *loxP*, va recombiner le gène d'intérêt dans le cadre de lecture normal, autorisant par là-même sa transcription (Atasoy et al., 2008). Des vecteurs viraux adéno-associés qui comprennent le matériel génétique floxxé codant pour les DREADD sont disponibles dans le commerce. Il reste donc à trouver un moyen d'introduire de façon sélective dans les neurones thalamiques qui projettent vers le cortex préfrontal médian la Cre recombinase.

De nombreux modèles d'animaux transgéniques exprimant la Cre recombinase dans une catégorie particulière de cellules sont disponibles sur le marché mais aucun modèle de ce type n'est disponible pour ce qui concerne notre problématique, à savoir des neurones possédant un type de projection particulier. Dès lors, il nous faut recourir à un deuxième vecteur viral, qui va permettre d'introduire la Cre recombinase dans les cellules d'intérêt. Ce

vecteur doit nécessairement posséder la propriété de migrer selon un tropisme rétrograde afin d'infecter les neurones sur la base de leurs projections dans la zone où ce vecteur est injecté. Fort heureusement, on doit au groupe dirigé par Erik Kremer la disponibilité d'un tel vecteur qui possède toutes les propriétés requises. Il s'agit de l'adénovirus canin de type 2 (CAV-2) qui (1) infecte préférentiellement les neurones, (2) possède un tropisme presque exclusivement rétrograde, (3) permet d'embarquer le matériel génétique codant pour la Cre recombinase et (4) possède une très faible cytotoxicité, ce qui garantit une expression stable y compris à très long terme (Bru, Salinas et Kremer, 2010).

Dès lors, nous disposons des outils nécessaires pour inhiber de façon sélective les neurones thalamiques du MD qui sont à l'origine de projections vers le cortex préfrontal médian, sans affecter les autres neurones thalamiques de cette même région qui n'innervent pas cette région corticale comme le montre la Figure **44A**. Cette stratégie consiste donc à injecter un premier vecteur viral adéno-associé au niveau du thalamus médiodorsal (AAV-DIO-hM4Di-mCherry) et le CAV2 au niveau du cortex préfrontal médian (CAV2-Cre). Le résultat net de cette manipulation est que lorsque le CNO sera injecté par voie intrapéritonéale, seuls les neurones du MD qui projettent vers le cortex préfrontal médian seront inactivés.

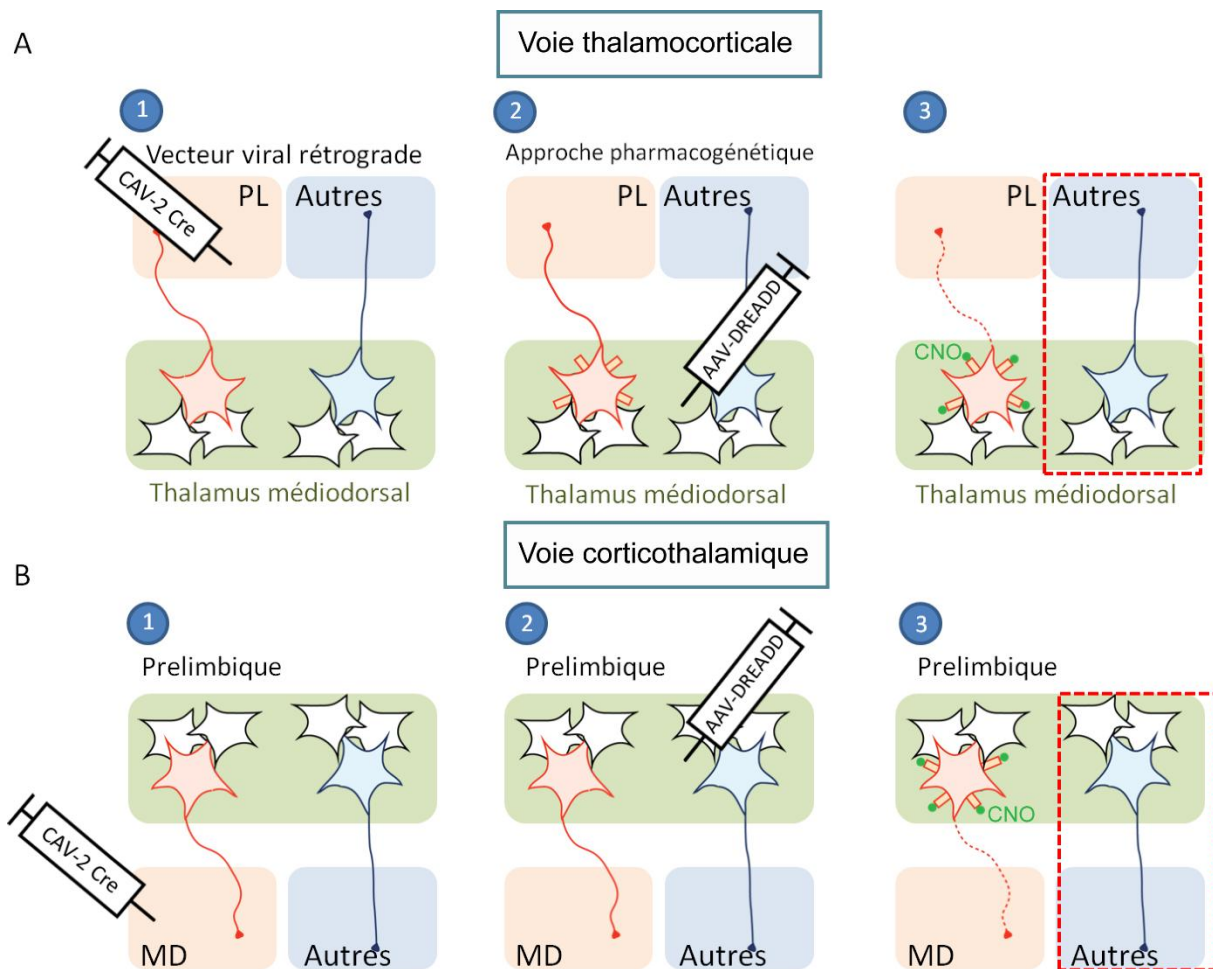


Figure 44 : (A) Stratégie de ciblage de la voie MD vers le PL. 1 – Le CAV-2 cre est injecté bilatéralement dans le PL. L'ensemble des neurones, dont ceux du MD, projetant vers le PL exprime la cre recombinase. 2 – Un AAV contenant le DREADD floxxé est injecté bilatéralement dans le même temps dans le MD. Le génome de ce virus ne peut s'exprimer que dans les neurones du MD comportant la cre recombinase (projetant donc vers le PL). 3 – L'ajout de CNO diminue sélectivement l'activité de la voie MD-PL, mais pas des autres voies en partance du MD. (B) Sur le même principe, il est possible de cibler de façon sélective les neurones corticaux qui projettent vers le MD. La comparaison de l'effet de ces deux manipulations nous renseigne donc sur la directionnalité des échanges fonctionnels au sein de circuits thalamocorticaux.

III) Contrôle thalamocortical de l'action dirigée

Ainsi, nous disposons d'une stratégie interventionniste dont la finesse est à la mesure de celle des outils comportementaux que nous avons validés, nous permettant donc d'aborder dans de bonnes conditions la contribution fonctionnelle de voies thalamocorticales spécifiques.

Les expériences que nous avons menées ont d'abord consisté à éprouver l'effet d'une inactivation réversible des neurones du MD projetant vers le cortex préfrontal médian dans les protocoles de dévaluation et de dégradation de la contingence. Contrairement à ce que nous avons escompté, cette manipulation n'a pas affecté la capacité à mettre à jour la

valeur de la récompense. En revanche, **la capacité à mettre à jour la relation de contingence entre l'action et la récompense a été abolie durant le test**. Ces résultats étant seulement partiellement en adéquation avec les données de la littérature « classique », nous avons envisagé que la contribution des neurones corticaux pourrait être cruciale pour la représentation de la valeur. Les résultats obtenus en procédant à la manipulation inverse (Figure **44B**) vont en ce sens, avec un effet sélectif de l'inhibition de ces neurones corticaux projetant vers le thalamus médiodorsal uniquement lors de la phase dévaluation instrumentale, la mise à jour de la contingence n'étant pas affectée.

Ainsi, pris dans leur ensemble, ces résultats, encore préliminaires à l'heure actuelle sont en faveur d'une contribution fonctionnelle différentielle des voies thalamocorticales et corticothalamiques dans le contrôle de l'action dirigée : la voie thalamocorticale **supporterait la mise à jour des contingences instrumentales tandis que la voie corticothalamique serait fondamentalement impliquée dans la représentation de la valeur de la récompense** (Tableau 4).

Ces résultats sont exposés sous forme d'une communication affichée. Il reste à les confirmer mais nous avons été en mesure d'établir un niveau d'expression considérable du récepteur muté après sacrifice des animaux (voir les exemples illustrés). Après vérification de ce niveau d'expression, les groupes expérimentaux sont de l'ordre de 6 animaux pour le groupe PL-MD, et 7 animaux pour le groupe MD-PL.

Les implications fonctionnelles de ces résultats préliminaires, particulièrement en ce qui concerne **la direction des échanges fonctionnels** au sein des circuits thalamocorticaux seront abordés dans la discussion générale.

Groupe	Acquisition	Déévaluation et Test	Dégradation
PL->MD	Non	Oui	Non
MD->PL	Non	Non	Oui

Tableau 4 : Résumé des déficits suivant l'inhibition des voies PL-MD et MD-PL lors des différentes tâches instrumentales

Roles of thalamocortical and corticothalamic pathways in goal-directed behaviors

Fabien Alcaraz (1), Eric Kremer (2), Alain Marchand (1), Etienne Coutureau (1)* and Mathieu Wolff (1)*
 (1) Institut de Neurosciences Cognitives et Intégratives d'Aquitaine, INCIA, UMR 5287, CNRS, Université de Bordeaux
 (2) Institut de Génétique Moléculaire de Montpellier, IGM, UMR 5535, CNRS, Université de Montpellier 1 et II

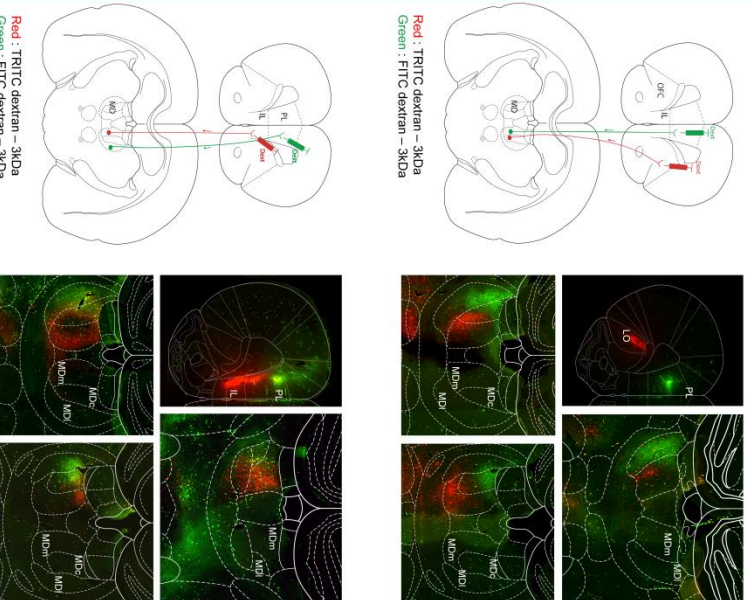
*These senior authors contribute equally to this work. Contact: mathieu.wolff@u-bordeaux.fr

Introduction

Survival of living organisms depends on the ability to flexibly select and engage in actions appropriate for their needs or desires. Such goal-directed behaviors are known to be largely dependent on the representations of outcome values and the causal relationship between actions and the associated outcomes. Although these processes are largely governed by the medial prefrontal cortex (mPFC), other subcortical areas are known to critically support these abilities, in particular limbic thalamic nuclei such as the mediodorsal thalamus (MD). The present work therefore aims at understanding the functional relationships between mPFC and MD in processes supporting goal-directed behaviors.

Thalamocortical connectivity

Method



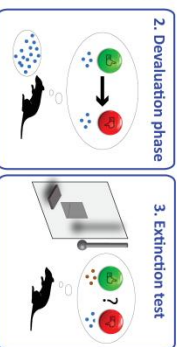
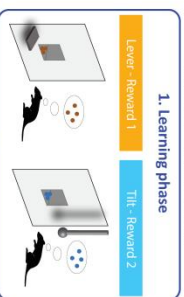
Red : TRITC dextran - 3kDa
Green : FITC dextran - 3kDa

Red : TRITC dextran - 3kDa
Green : FITC dextran - 3kDa

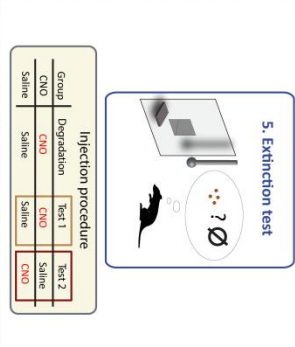
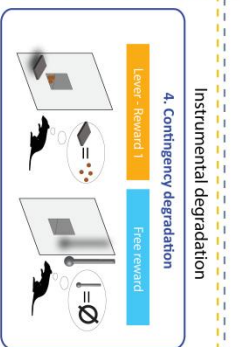
Complex and regionalized patterns of thalamocortical pathways

Methods: Behavioral protocol

Instrumental devaluation



Group	Learning	Devaluation and test 1	Devaluation and test 2
CNO	CNO	Saline	CNO
Saline	Saline	Saline	Saline

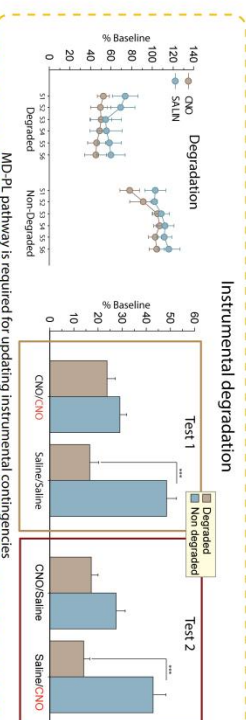
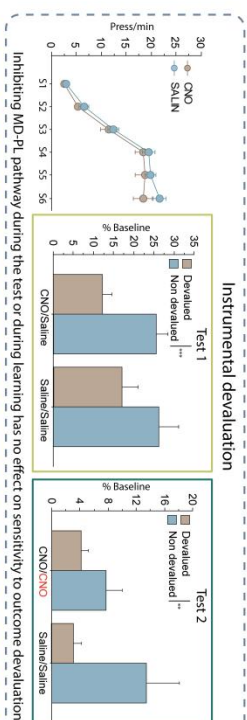


Group	Degradation	Test 1	Test 2
CNO	CNO	CNO	Saline
Saline	Saline	Saline	CNO

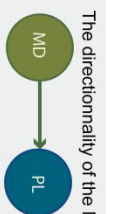
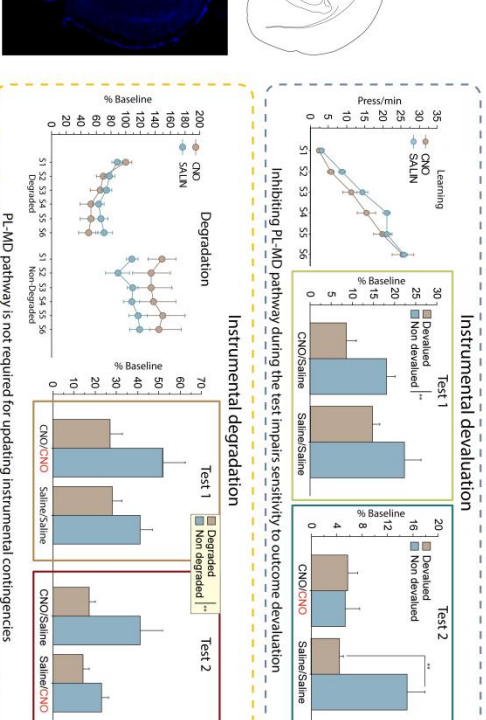


This work was supported by the ANR grant GOAL.

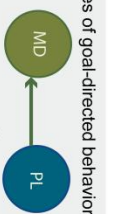
Thalamocortical interactions in goal-directed behaviors



Corticothalamic interactions in goal-directed behaviors



Updating of instrumental contingencies



Updating or representing outcome value

The directionality of the MD-PL exchanges support different features of goal-directed behaviors

Chapitre IV : Rôle du thalamus submédian dans les processus de prédiction

De façon inattendue, l'exploration des afférences thalamiques du cortex orbitofrontal aura révélé la présence d'un noyau projetant densément sur cette structure : le noyau submédian, dont le rôle est totalement inconnu dans le cadre de l'étude des fonctions cognitives. En fait, les seules données disponibles font état d'une influence modulatrice sur les information nociceptives dans le cadre d'interactions avec le cortex orbitofrontal et la substance grise périaqueducule (Tang, Qu et Huo, 2009).

Au vu des fonctions cognitives complexe qui sont associées au cortex orbitofrontal (voir introduction), il nous a semblé pertinent d'examiner une contribution potentielle du thalamus submédian dans les processus sous le contrôle du cortex orbitofrontal. Pour cela, nous en avons sélectionné deux, correspondent respectivement à la représentation de l'identité de la récompense et à la capacité à mettre à jour les contingences Pavloviennes (Ostlund et Balleine, 2007b ; Stalnaker et al., 2014).

Nous avons déjà abordé assez largement le déroulement d'une épreuve de dégradation de la contingence Pavlovienne aussi reviendrons-nous uniquement sur la première aptitude qui consiste à déterminer dans quelle mesure l'animal peut tirer parti de l'identité spécifique d'une récompense pour potentialiser son choix. Pour ce faire, nous avons mis en place une épreuve de discrimination conditionnelle où deux stimuli sont associés à deux réponses différentes (appui sur l'un ou l'autre des deux leviers disponibles). Une observation intrigante que rapporte Trapold au début des années 1970 (Trapold et Overmier, 1972), est que dans ce type d'épreuves, la performance des animaux est bien meilleure lorsque chacune des associations à encoder est récompensée de manière spécifique. Cet effet est classiquement décrit comme le *Differential Outcome Effect (DOE)* : après une phase d'apprentissage, les animaux peuvent en effet utiliser l'identité de la récompense *attendue* comme un élément discriminatif supplémentaire (en plus du stimulus), pour faire leur choix (Urcuioli, 2005). Le DOE a été décrit comme dépendant notamment du cortex orbitofrontal (McDannald et al., 2005).

Dans cette étude, nous avons non seulement confirmé nos données anatomiques initiales (le thalamus submédian est une afférence majeure de l'ensemble du cortex orbitofrontal) mais également démontré que le thalamus submédian est largement innervé par le cortex orbitofrontal, en accord avec l'idée que ces deux structures puissent appartenir au même circuit fonctionnel. En procédant à une approche lésionnelle comparée (animaux porteurs d'une lésion de l'OFC *versus* animaux porteurs d'une lésion du thalamus submédian), nous avons ensuite observé que les lésions n'empêchaient pas la manifestation du DOE mais que la performance des animaux OFC était largement sous-tendue par les associations de type « Outcome-Response », tandis que celle des animaux témoins et submédiens dépendait plus largement des stimuli. Ainsi, le déficit que nous avons ensuite observé dans l'épreuve de dégradation Pavlovienne chez ce dernier groupe se caractérise par sa grande spécificité. Conformément aux données de la littérature, la lésion de l'OFC était alors également délétère.

Ainsi, cette étude a permis de confirmer le rôle fondamental de l'OFC dans l'organisation du comportement sur la base de la représentation du lien entre stimulus et récompense spécifique. De façon critique, nous mettons en évidence un rôle spécifique du thalamus submédian dans la capacité à mettre les contingences Pavloviennes. Ce travail a été publié dans la revue *Journal of Neuroscience*. Il a fait l'objet d'un communiqué de presse national du CNRS (<http://www2.cnrs.fr/presse/communique/4227.htm>) qui a connu un certain écho sur le web (sélection de liens à la fin de l'article suivant : <http://www.bordeaux-neurocampus.fr/fr/publications/highlights/highlights-2015/wolff-m-alcaraz-jofn.html>).

Flexible Use of Predictive Cues beyond the Orbitofrontal Cortex: Role of the Submedial Thalamic Nucleus

Fabien Alcaraz,^{1,2} Alain R. Marchand,^{1,2} Elisa Vidal,^{1,2} Alexandre Guillou,^{1,2} Angélique Faugère,^{1,2} Etienne Coutureau,^{1,2} and Mathieu Wolff^{1,2}

¹Centre National de la Recherche Scientifique and ²Université de Bordeaux, Institut de Neurosciences Cognitives et Intégratives d'Aquitaine, UMR 5287, 33076 Bordeaux, France

The orbitofrontal cortex (OFC) is known to play a crucial role in learning the consequences of specific events. However, the contribution of OFC thalamic inputs to these processes is largely unknown. Using a tract-tracing approach, we first demonstrated that the submedial nucleus (Sub) shares extensive reciprocal connections with the OFC. We then compared the effects of excitotoxic lesions of the Sub or the OFC on the ability of rats to use outcome identity to direct responding. We found that neither OFC nor Sub lesions interfered with the basic differential outcomes effect. However, more specific tests revealed that OFC rats, but not Sub rats, were disproportionately relying on the outcome, rather than on the discriminative stimulus, to guide behavior, which is consistent with the view that the OFC integrates information about predictive cues. In subsequent experiments using a Pavlovian contingency degradation procedure, we found that both OFC and Sub lesions produced a severe deficit in the ability to update Pavlovian associations. Altogether, the submedial therefore appears as a functionally relevant thalamic component in a circuit dedicated to the integration of predictive cues to guide behavior, previously conceived as essentially dependent on orbitofrontal functions.

Key words: adaptive behaviors; degradation; differential outcome effect; Pavlovian associations; rat

Significance Statement

In the present study, we identify a largely unknown thalamic region, the submedial nucleus, as a new functionally relevant component in a circuit supporting the flexible use of predictive cues. Such abilities were previously conceived as largely dependent on the orbitofrontal cortex. Interestingly, this echoes recent findings in the field showing, in research involving an instrumental setup, an additional involvement of another thalamic nuclei, the parafascicular nucleus, when correct responding requires an element of flexibility (Bradfield et al., 2013a). Therefore, the present contribution supports the emerging view that limbic thalamic nuclei may contribute critically to adaptive responding when an element of flexibility is required after the establishment of initial learning.

Introduction

Survival of living organisms depends on the ability to flexibly select and engage in actions appropriate for an organism's needs

or desires. Learning adaptive behaviors involves a combination of instrumental and Pavlovian processes, the latter being especially important when behaviorally relevant outcomes may be associated with particular stimuli. Prefrontal contributions to these processes can be dissociated, with the medial prefrontal cortex being more involved in the acquisition of instrumental associations (Killcross and Coutureau, 2003; Coutureau et al., 2009; Tran-Tu-Yen et al., 2009) and the orbitofrontal cortex (OFC) in Pavlovian associations (Ostlund and Balleine, 2007a; Balleine et al., 2011). Successful action selection, however, requires the integration of information from multiple brain structures, including the striatum (Yin et al., 2005; Corbit and Janak, 2010), the basolateral amygdala (Balleine et al., 2003; Coutureau et al., 2009; Parkes and Balleine, 2013), and, as more recently evidenced, several limbic thalamic nuclei (Corbit et al., 2003; Mitchell et al., 2007; Ostlund and Balleine, 2008; Bradfield et al., 2013a; Alcaraz et al., 2014; Parnaudeau et al., 2015).

Received March 30, 2015; revised July 20, 2015; accepted Aug. 15, 2015.

Author contributions: A.R.M., E.C., and M.W. designed research; F.A., E.V., A.G., A.F., and M.W. performed research; A.R.M. contributed unpublished reagents/analytic tools; F.A. and M.W. analyzed data; A.R.M., E.C., and M.W. wrote the paper.

This work was supported by a grant from the French agency for research, Agence Nationale pour la Recherche Thalame. The microscopy was done in the Bordeaux Imaging Centre, a service unit of the Centre National de la Recherche Scientifique–Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, and Bordeaux University, member of the France BioImaging national infrastructure, with help from Christel Poujol and Sébastien Marais. We also thank Yoan Salafranke for animal care.

The authors declare no competing financial interests.

Correspondence should be addressed to Mathieu Wolff, Institut de Neurosciences Cognitives et Intégratives d'Aquitaines (INICIA), UMR 5287, CNRS/Université de Bordeaux Université de Bordeaux-Site Carreire, BP31 146 rue Léo Saignat, 33076 Bordeaux cedex, France. E-mail: mathieu.wolff@u-bordeaux.fr.

DOI:10.1523/JNEUROSCI.1237-15.2015

Copyright © 2015 the authors 0270-6474/15/3513183-11\$15.00/0

Limbic thalamic nuclei typically exhibit specific connectivity with cortical areas, especially with the prefrontal region. Regarding the thalamic projections connecting to the OFC, the mediodorsal thalamus appears as a major source (Groenewegen, 1988; Bradfield et al., 2013b). Although there is a suggestion that this thalamic region may support the use of Pavlovian contingencies (Ostlund and Balleine, 2008), its functional involvement is more evident during instrumental learning (Corbit et al., 2003; Mitchell et al., 2007; Pickens, 2008; Parnaudeau et al., 2015). Moreover, the mediodorsal thalamus also provides a dense innervation to the medial prefrontal cortex, which is well known to support goal-directed behavior in instrumental setups (Balleine et al., 2003; Corbit et al., 2003; Coutureau et al., 2009; Tran-Tu-Yen et al., 2009). Thus, we reasoned that a different, more selective, thalamic source may support Pavlovian learning when functions of the OFC are engaged.

Therefore, to better understand thalamic connections of the OFC, the first experiment of the present study consisted of a tract-tracing approach. We demonstrated that the submedial nucleus (Sub), a poorly known thalamic area, is a major source of thalamic afferents to the OFC. Interestingly, while there is experimental evidence suggesting that the Sub and the OFC may support the modulation of ascending nociceptive information (Tang et al., 2009), no attempt has been made to investigate a possible implication of the submedial in more cognitive aspects of OFC functions. Therefore, the present study primarily aimed to document this issue. To do so we directly compared the functional consequences of specific OFC versus Sub lesions in two tasks requiring the use of stimulus–outcome (S–O) associations to guide and adapt behavior. The first task, conditional discrimination with differential outcomes, explicitly assessed whether lesioned rats were able to use sensory information about the rewards to potentiate performance. Previously, OFC lesions have indeed been shown to impair the so-called differential outcome effect (McDannald et al., 2005). However, the within-subject approach used only revealed subtle effects and, more importantly, did not identify the type of associations that were affected by the lesion in this task. Therefore, we used a more direct, between-subject approach, aimed at dissociating the specific associations used by rats to guide behavior (Blundell et al., 2001). As a second task, we used a contingency degradation procedure to assess the ability to update Pavlovian contingencies, which was previously demonstrated to be impaired by OFC lesions (Ostlund and Balleine, 2007a). Altogether, these approaches made it possible to identify the Sub as a new relevant component of a distributed circuit supporting adaptive performance when Pavlovian contingencies are altered.

Materials and Methods

Animals and housing conditions

Eighty-four male Long–Evans rats obtained from the Centre d'Élevage Janvier (France) were used (weight, 275–325 g at surgery). Rats were initially housed in pairs and accustomed to the laboratory facility for 2 weeks before the beginning of the experiments. Environmental enrichment was provided by tinted polycarbonate tubing elements, in accordance with current French (council directive 2013-118, February 1, 2013) and European (directive 2010-63, September 22, 2010, European Community) laws and policies regarding animal experiments. The facility was maintained at $21 \pm 1^\circ\text{C}$ with lights on from 7:00 A.M. to 7:00 P.M. Rats were tested only during the light portion of the cycle. The experimental protocols received approval #5012035-A from the Ethics Committee on December 7, 2012. Six rats were used for tracing experiments. The remaining 78 rats underwent behavioral experiments. For Experiment 1, 62 rats were divided into three lesion groups (Sham/OFC/

Sub), with one of two protocols (Consistent/Inconsistent) as follows: Sham–Consistent ($n = 10$), Sham–Inconsistent ($n = 10$), OFC–Consistent ($n = 10$), OFC–Inconsistent ($n = 10$), Sub–Consistent ($n = 11$), Sub–Inconsistent ($n = 11$). Rats from these Consistent groups were also used for Experiment 2. For Experiment 3, 16 naive rats were used to assess the effect of Sub lesion in naive rats submitted to the Pavlovian degradation task (eight Sham and eight Sub rats).

Surgery

Rats were anesthetized with 4% isoflurane and placed in a stereotaxic frame with atraumatic ear bars (Kopf) in a flat skull position. Anesthesia was maintained with 1.5–2% isoflurane and complemented by subcutaneous administration of buprenorphin (Buprecare, 0.05 mg/kg).

For retrograde tracing experiments, 4% 3 kDa dextrans (Life Technologies) coupled to either fluorescein or tetramethylrhodamine were dissolved in citric acid, pH 3.0, to enhance retrograde labeling (Kaneko et al., 1996) and injected in the OFC or in the Sub. For the OFC, 0.3 μl injections targeted the ventral area of the OFC (VO) and the lateral area of the OFC (LO) in the same hemisphere as follows: LO: anteroposterior (AP), +3.7 mm from bregma; laterality, ± 2.6 mm; dorsoventral (DV), -5.0 mm; VO: AP, +3.7 mm from bregma; laterality, ± 1.4 mm; DV, -5.2 mm. These injections were performed in four rats and the use of a specific dextran (i.e., coupled to fluorescein or tetramethylrhodamine) was counterbalanced when targeting either orbitofrontal area. At the level of the submedial, 0.2 μl injections of a different dextran on each side (counterbalanced) were performed on two rats at the following coordinates: AP, -2.7 mm from bregma; laterality, ± 0.7 mm; DV, -7.1 mm.

For behavioral studies, neurotoxic lesions were made using multiple NMDA microinjections. Twenty micrograms per microliter NMDA (Sigma-Aldrich) in artificial CSF (CMA Microdialysis) were pressure-injected into the brain through a glass micropipette (outside diameter, ~ 100 μm) and polyethylene tubing (Picospritzer, General Valve). For OFC lesions, three lesion sites per side were used as follows: AP, +4.2, +3.7, and +3.2 mm from bregma; laterality, ± 0.9 , 2.0, and 2.8 mm; DV, -4.4 , -4.5 , and -5.2 mm from bregma. Each site was injected with 0.1 μl of NMDA. Neurotoxic Sub lesions were made using the same procedure, with one lesion site per side at the following coordinates: AP, -2.7 mm; laterality, ± 0.7 mm; DV, -7.1 mm. Each site was injected with 0.05 μl of NMDA. In all cases, the pipette was left in place 3 min after injection before slow retraction. The Sham groups received similar surgery except that the micropipette was lowered only in the cortex and no injection was made (DV, -2.0 mm). Rats were given ≥ 10 d of recovery before behavioral testing or 7 d before being killed for tracing experiments.

Behavioral apparatus

Animals were trained in eight identical conditioning chambers (40 cm wide \times 30 cm deep \times 35 cm high; Imetronic), each located inside a sound-attenuating and light-attenuating wooden chamber (74 \times 46 \times 50 cm). Each chamber had a ventilation fan producing a background noise of 55 dB and four LEDs on the ceiling for illumination of chamber. Each chamber had two opaque panels, one on the right side and one on the left side; two clear Perspex walls, one on the back side and one on the front side; and a stainless-steel grid floor (rod diameter, 0.5 cm; inter-rod distance, 1.5 cm). In the middle of the left wall, a magazine (6 \times 4.5 \times 4.5 cm) received food pellets (45 mg; F0165, Bio-Serv) or a 20% saccharose solution (27478.296, VWR) from dispensers located outside the operant chamber. Speakers in each chamber provided the auditory stimuli, which were a 3 kHz tone or a 10 Hz clicker-train produced by the activation of a mechanical relay. The magazine was equipped with infrared cells to detect the animal's visits. A retractable lever (4 \times 1 \times 2 cm) could be inserted next to the magazine. A personal computer connected to the operant chambers and equipped with Poly software and interface (Imetronic) controlled the equipment and recorded the data.

Behavioral procedures

Experiment 1: conditional discrimination

The differential outcomes procedure has been described in classic experimental psychology works reporting how animals can take advantage of

the sensory properties of the reward when it can serve as a supplemental discriminative cue (Trapold and Overmier, 1972). Typically, animals are required to learn a conditional discrimination task, such as pressing one of two available levers in response to a specific discriminative auditory stimulus. They are required to press the alternate lever when a second auditory stimulus is provided. In the control group, all correct responses (for any stimulus) are rewarded with the delivery of a single type of reward. In the experimental group, a distinct reward (i.e., grain pellet or saccharose solution) is provided when the animal responds correctly for each auditory cue. Faster learning in the experimental group instantiates the differential outcome effect (DOE). The classic interpretation for the DOE is that specific associations are formed between the discriminative stimuli and the sensory properties of the rewards, providing the animals in the experimental groups with an additional way to select the appropriate response (Trapold and Overmier, 1972; Blundell et al., 2001; Urcuioli, 2005). Importantly, it has previously been shown that OFC lesions impair this ability (McDannald et al., 2005).

Magazine training. Initially, all rats were trained for one 30 min session to collect either the food pellets or the saccharose solution, which were delivered on a random time 60 s schedule.

Instrumental training. All rats were then trained to press a lever to obtain a reward during four 30-min-long instrumental training sessions. The cage was illuminated and one of the two available levers inserted for the duration of the whole session. Presses on the lever resulted in the delivery of a reward of either type according to a pseudorandom sequence during this phase. The rats first received training for 2 d (one for each lever) under a continuous reinforcement, fixed ratio 1 schedule (FR1 i.e., each lever press was rewarded) until they had earned 50 rewards or 60 min had elapsed. In the next and final two sessions (one for each lever) of instrumental training, the rewards were delivered according to a random 30 s interval schedule (RI30; i.e., after each reward the lever had no effect for 30 s on average).

Conditional discrimination task. The conditional discrimination task and subsequent tests were adapted from the procedure proposed by Blundell et al. (2001). Briefly, a training session consisted of eight alternating 5 min presentations of the two discriminative stimuli, the tone and the clicker (four tones and four clicks for a total duration of 40 min per training session). Both levers were available during the whole session but only one lever was reinforced during each stimulus. The other lever had no effect during this stimulus but was reinforced during the alternate stimulus. Reinforcements were delivered according to the RI30 schedule previously used for instrumental learning. In particular, at the beginning of each stimulus, the lever had no effect for a random 30 s interval. Rats received a total of 10 training sessions. Each rat was randomly assigned to the Consistent or Inconsistent group. While rats from the Consistent group received a consistent and specific outcome for each stimulus–response (S–R) association (for example, a pellet for tone–left lever and the sucrose solution for click–right lever), rats from the Inconsistent groups were rewarded with an equal probability with pellets and sucrose for each association. All conditions were fully counterbalanced in each lesion group. Presses on the correct and incorrect levers were registered during each stimulus presentation and the proportion of correct responses was then analyzed.

Test in extinction (no-reward condition). After the 10 sessions of conditional discrimination training, a supplemental session was conducted in the exact same conditions except that no reward was delivered. Therefore, the discriminative stimuli were the only cues available to support performance during this test.

Test without stimuli (no-stimulus condition). Following the test in extinction, a unique reacquisition session was conducted for all rats under standard conditions (rewards were again delivered). After this session, the rats were tested again but this time in the presence of the rewards but not of the stimuli. Therefore, the rewards were the only cues available to support performance during this test.

Outcome reversal. After a second reacquisition session, a final test was conducted in rats from the Consistent group only. This test consisted in

reversing the outcomes (i.e., the rewards) for each S–R association. That is, each stimulus continued to signal the same correct response, but this S–R association was now reinforced following an opposite pattern (e.g., S1–R1 previously reinforced by sucrose was now reinforced with grain). A direct prediction of the differential outcome effect theory is that such manipulation should considerably impair performance even though the initially learned S–R associations remain valid, showing that performance can be largely governed by the reward itself when it can serve as a predictive cue (Urcuioli, 2005).

Experiment 2: Pavlovian contingency degradation

At the end of Experiment 1, all rats from the Consistent groups underwent additional behavioral testing to investigate whether any of the lesions would interfere with the updating of Pavlovian contingencies. To do so, an initial Pavlovian conditioning phase was conducted, during which rats learned to associate each of the two auditory cues previously experienced with the delivery of one of the outcomes in the magazine. Once the Pavlovian associations were reliably established, the contingency between one of the conditional stimuli (CSs) and its outcome was selectively degraded by providing random rewards with similar probability throughout the session. The animals could thus learn that this particular stimulus was no longer a reliable predictor of the reward as there was an equal probability to receive it during the CS or during the intertrial intervals (ITIs).

Pavlovian conditioning. Rats received a total of four sessions of Pavlovian training, during which they learned that each predictive auditory cue was associated with the delivery of a particular outcome; that is, the reward that was associated with this stimulus during the last phase of Experiment 1 (Outcome reversal). Each training session consisted of successive presentations of only one of the auditory predictive cues so that the tone was used for two sessions and the clicker was used for two sessions. For each session, there were 20 successive presentations of a given auditory cue with an average ITI of 70 s. Each stimulus presentation lasted 20 s, during which the corresponding outcome was delivered pseudorandomly from zero to four times (average, 1.5 times), for a total of 30 rewards per daily session.

Pavlovian contingency degradation. Following Pavlovian conditioning, all rats were given eight supplemental daily sessions. These sessions alternated between standard sessions following exactly the same schedule as during initial Pavlovian conditioning and sessions during which the contingency between the auditory cue and the associated outcome was degraded. For each rat, only one S–O association was degraded, the other S–O association being presented in a standard session on alternate days. For the degraded schedule, 30 rewards were distributed throughout the session, both during the stimulus and the ITI, so that the probability of receiving the reward was equal during these two periods. Moreover, care was taken to match as closely as possible the distribution of inter-reward intervals under the nondegraded and degraded conditions. All S–O associations and associated contingency schedules (degraded vs nondegraded) were counterbalanced across rats and lesion groups.

Test without rewards (in extinction). After the last session of contingency degradation, rats underwent a final test under extinction conditions. This test consisted of four alternating, 1 min presentations of the stimuli, separated by a fixed 1 min ITI (total session duration, 9 min). No reward was delivered during this test. The critical measure for this test was the rate of visits to the magazine during the first 20 s for each stimulus.

Experiment 3: Pavlovian contingency degradation in naive rats

To examine the extent to which prior training in the DOE task may have influenced Pavlovian responding and to confirm the selective effect of Sub lesion on Pavlovian processes, a new cohort of naive rats comprising both Sham and Sub animals was submitted to the Pavlovian degradation task. The only differences were that Pavlovian training was given for six consecutive daily sessions (instead of two in Experiment 2) and degradation was assessed for 10 consecutive sessions (instead of four in Experiment 2). Extending these periods was necessary to establish asymptotical performance in Sham rats,

thus suggesting that prior DOE training had indeed facilitated Pavlovian conditioning. All other aspects of the task followed exactly the procedures described above for Experiment 2.

Histology

Animals received a lethal dose of sodium pentobarbital and were perfused transcardially with 150 ml of saline followed by 400 ml of 10% formalin. The sections throughout the OFC and the Sub regions were collected onto gelatin-coated slides and dried before being stained with thionine. Histological analysis of the lesions was performed under the microscope by two experimenters (M.W. and F.A.) blind to lesion conditions.

Dextran revelation

For tracing experiments, rats were perfused transcardially with 150 ml of saline followed by 400 ml of 4% paraformaldehyde (PFA). Brains were kept in the same PFA solution overnight, then sections of 40 μ m of the prefrontal cortex and the thalamus were made using a vibratome. Immunocytochemistry was performed on the sections to enhance the dextran staining. First, sections were rinsed in PBS 0.1 M (5 \times 5 min), and then incubated in a blocking solution for 1 h (4% donkey serum and 0.2% Triton X-100 in PBS 0.1 M). Immediately after, sections were put in a bath containing primary antibodies, rabbit anti-tetramethylrhodamine (A-6397, Life Technologies) and goat anti-fluorescein (A-11096, Life Technologies), which were diluted at 1:1000 and 1:200 respectively in the blocking solution for incubation at 4°C for 48 h. Sections were then rinsed in PBS 0.1 M (4 \times 5 min) and placed for 2 h in a bath containing a donkey anti-goat secondary antibody coupled to fluorescein (1:200 in PBS 0.1 M; 705-546-147, Jackson ImmunoResearch). After further rinses in PBS 0.1 M (4 \times 5 min), the slices were incubated with the other secondary antibody, goat anti-rabbit coupled to tetramethylrhodamine (1:200 in PBS 0.1 M; 111-025-003, Jackson ImmunoResearch) for 2 h. Following four 5 min rinses in PBS 0.1 M, Hoechst solution (B2883, Sigma-Aldrich) for counterstaining was added for 15 min (1:5000 in PBS 0.1 M). Finally, sections were rinsed in PB 0.1 M (4 \times 5 min), mounted in PB 0.05 M onto gelatin-coated slides, and coverslipped with the antifading reagent Fluoromount G (0100-01, SouthernBiotech). Images were then captured using a Nanozoomer slide scanner (Hamamatsu Photonics) and analyzed with the NDP.view freeware (Hamamatsu Photonics).

Data analysis

The data were submitted to ANOVAs on StatView software (SAS Institute) with Lesion (Sham/OFC/Sub) and Procedure (Consistent/Inconsistent) as between-subject factors, Period (ITI, CS) or Condition (Degraded/Nondegraded), and Session or Two-session Blocks as repeated measures when appropriate. For the Pavlovian conditioning experiment, the dependent measure was the average frequency of magazine

visits before any pellet delivery during any stimulus presentation. The α value for rejection of the null hypothesis was 0.05 throughout.

Results

Tracing experiments

The cortical injections of the retrograde tracers at the level of the orbitofrontal region produced intense labeling at the level of the thalamus, as shown in Figure 1A. Two main thalamic loci were particularly prominent. These corresponded to the medi-

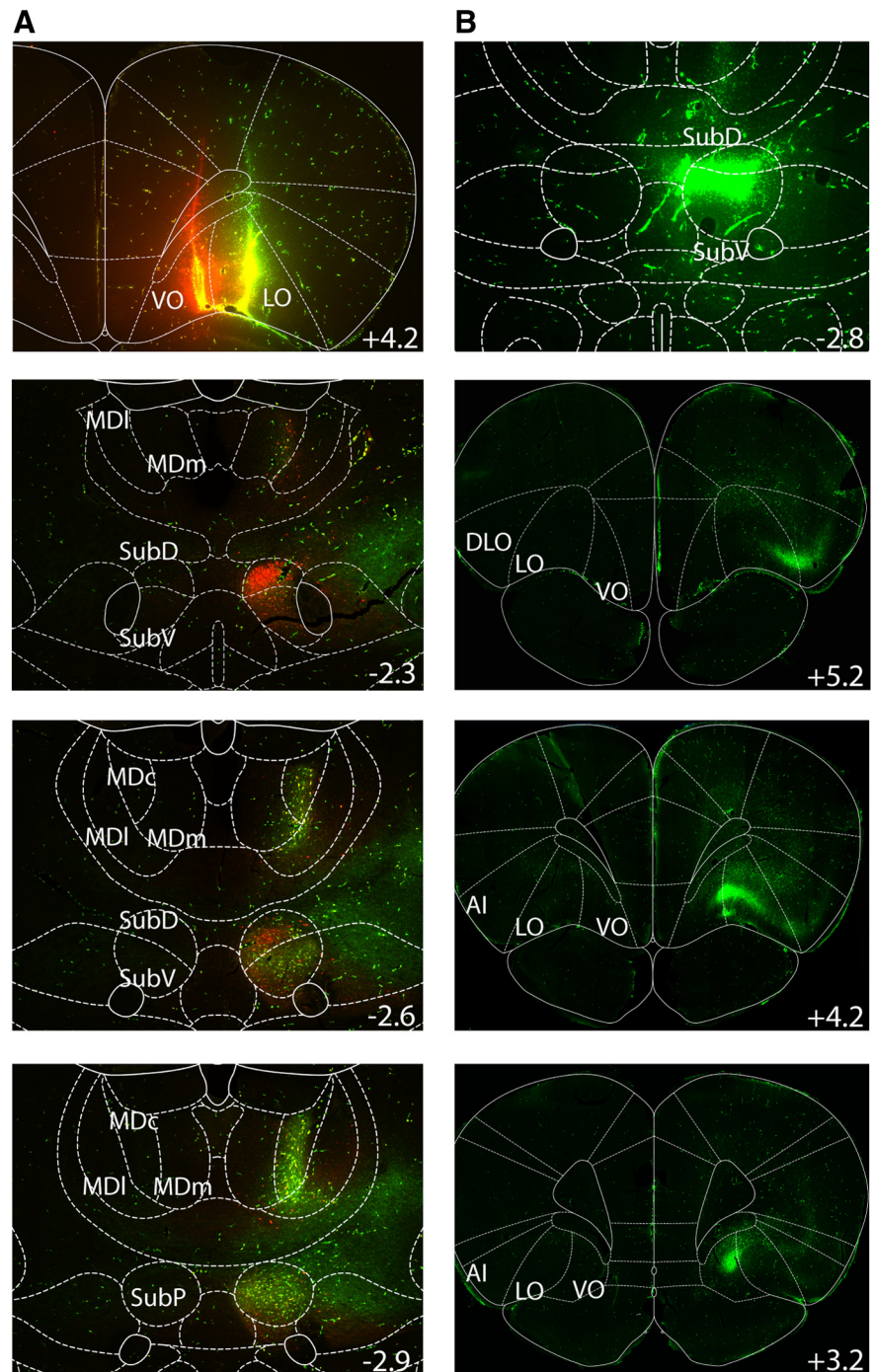


Figure 1. Tracing experiments. **A**, Top, Injection of dextrans in the VO and LO. The lower panels show the resulting retrograde labeling in the submedial at three different levels of the anteroposterior axis (indicated in millimeters relative to bregma). **B**, Top, Injection of a dextran at the level of the submedial. The three other panels show the retrograde labeling at the level of the prefrontal cortex. SubD, Dorsal part of the submedial; SubV, ventral part of the submedial; SubP, posterior part of the submedial; DLO, dorsolateral part of the orbitofrontal cortex; AI, insular area.

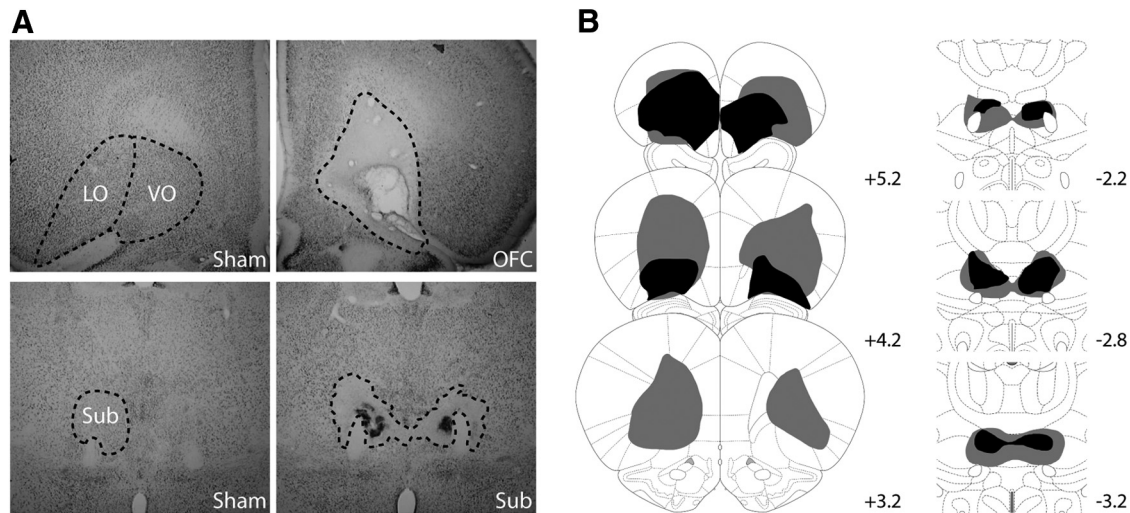


Figure 2. Histology. **A**, Representative photomicrographs of the OFC (top) and Sub regions (bottom) in Sham (left) and lesioned rats (right). **B**, Representation of the included largest (gray) and smallest (black) OFC (left) and Sub (right) lesion at three different levels of the anteroposterior axis (indicated in millimeters relative to bregma).

odorsal thalamus and the submedialis. Injections to both the LO and VO resulted in consistent and intense labeling of ipsilateral thalamic cells in the submedialis of the four rats examined, with a topographic organization that followed an anteroposterior gradient. The most rostral part of the submedialis appeared to innervate both the VO and the LO, with a relative segregation within this thalamic subregion. While the ventrolateral submedialis appeared to project preferentially to the LO, the dorsomedial submedialis provided substantial afferents to the VO. Farther back on the anteroposterior axis, the submedialis seemed to innervate essentially the LO. Altogether, thalamocortical afferents from the submedialis to the OFC appeared to predominantly innervate the LO, ipsilaterally.

Regarding the injections of the same retrograde tracer at the thalamic level, an intense labeling was present mostly in the ipsilateral OFC (Fig. 1B). In particular, cell bodies were present in the dorsolateral parts of the orbitofrontal cortex, the LO, and the VO. A few cells were also visible in the insular and somatosensory cortex. In conclusion, we demonstrate strong reciprocal connections between the submedialis and the orbitofrontal regions.

Histology

The OFC and Sub lesions are shown in Figure 2. In general, OFC lesions were comparable to those previously reported in the literature using the same coordinates and volumes of injections (Rudebeck et al., 2007) and typically consisted of extensive damage to the whole extent of the ventrolateral orbital region, while the medial prefrontal cortex was essentially unaffected (Fig. 2A). One OFC rat was discarded as it exhibited only minimal damage, which was too anterior. In most cases, the small injections at the level of the Submedialis produced the expected specific bilateral damage with only moderate damage to the reuniens/rhomboid complex that lies just in between the bilateral Subs (Fig. 2B). In a few cases ($n = 5$), substantial damage to this region was also observed, together with additional encroachment to the centro-medial, and even the mediodorsal, thalamic nuclei in the worst case (unilaterally). But these animals were not behaviorally different from the ones without such damage in all tasks examined. However, three experimental Sub rats were discarded from behavioral analyses because the lesion was too posterior, leaving the submedialis essentially intact. In addition, one Sham rat be-

came sick after surgery and had to be killed. The thin glass micropipette caused no detectable mechanical injury to either the cortex or the thalamus. The final groups for Experiments 1 and 2 were therefore as follows: Sham: $n = 19$; Consistent group, 9; Inconsistent group, 10; OFC: $n = 19$; Consistent group, 10; Inconsistent group, 9; Sub: $n = 19$; Consistent group, 9; Inconsistent group, 10. For Experiment 3, all Sub lesions were sufficiently accurate and highly comparable to those included in Experiments 1 and 2 (Sham, $n = 8$; Sub, $n = 8$).

Experiment 1: conditional discrimination

Acquisition of the conditional discrimination task is shown in Figure 3A–C for Sham, OFC, and Sub rats, respectively. During acquisition of the task, the main observation was that animals trained with the consistent procedure achieved much higher performance than animals from the Inconsistent groups, regardless of lesion status. Gradual learning of the conditional task was confirmed by a highly significant effect of session Block ($F_{(4,204)} = 53.00$; $p < 0.0001$). The better performance in the Consistent groups was confirmed by a significant effect of Procedure ($F_{(1,51)} = 59.87$, $p < 0.0001$) and a significant Block \times Procedure interaction ($F_{(4,204)} = 18.80$, $p < 0.0001$). The main effect of Lesion failed to reach significance ($F_{(2,51)} = 2.57$, $p = 0.0869$) as did any interaction with the Lesion factor [Lesion \times Procedure ($F < 1$); Lesion \times Block ($F_{(8,204)} = 1.34$, $p = 0.2248$); Lesion \times Block \times Procedure ($F_{(8,204)} = 1.38$, $p = 0.2072$)], indicating that both lesions entirely spared performance during acquisition of the task. This was observed in both the Consistent (Lesion, $F_{(2,25)} = 1.35$, $p = 0.2779$; Lesion \times Block, $F < 1$) and the Inconsistent groups [Lesion, $F_{(2,26)} = 2.50$, $p = 0.1009$; Lesion \times Block ($F_{(8,104)} = 1.74$, $p = 0.0979$)]. The significant effect of Block for both procedures however confirmed that all rats gradually improved over time (Consistent: Block, $F_{(4,100)} = 81.46$, $p < 0.0001$); Inconsistent: Block, $F_{(4,104)} = 4.24$, $p = 0.0032$) although less convincingly for the Inconsistent groups. Even in the latter case, however, the Lesion \times Session interaction failed to reach significance (Consistent, $F < 1$; Inconsistent, $F_{(8,104)} = 1.74$, $p = 0.0979$). Furthermore, the total numbers of presses on the correct or on the incorrect levers were both similar for each group (Correct lever: Lesion, $F_{(2,51)} = 1.10$, $p = 0.3389$; Incorrect lever: Lesion, $F < 1$). Acquisition of the conditional discrimina-

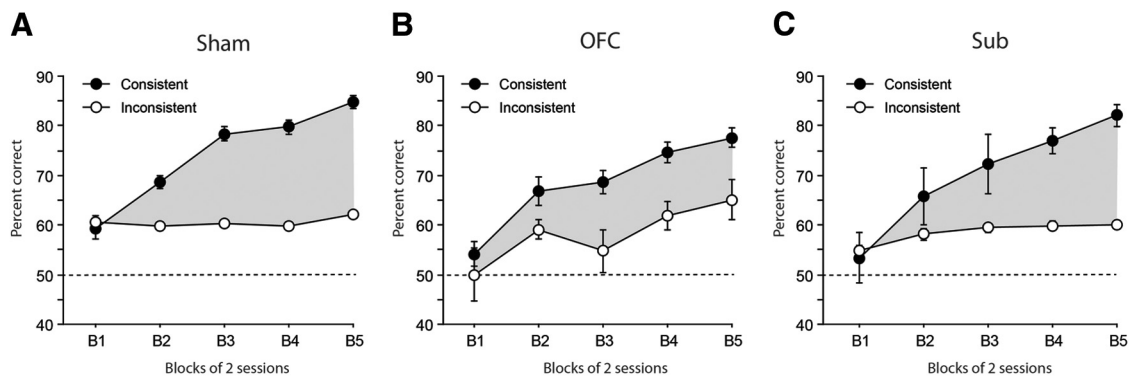


Figure 3. Percentage of correct responses during the acquisition phase of the conditional discrimination task. The performance of groups trained with the consistent (black) and inconsistent (white) procedures is shown for Sham (**A**), OFC (**B**) and Sub (**C**) rats. The gray area between black and white curves shows the differential outcome effect. Data are expressed as mean \pm SEM.

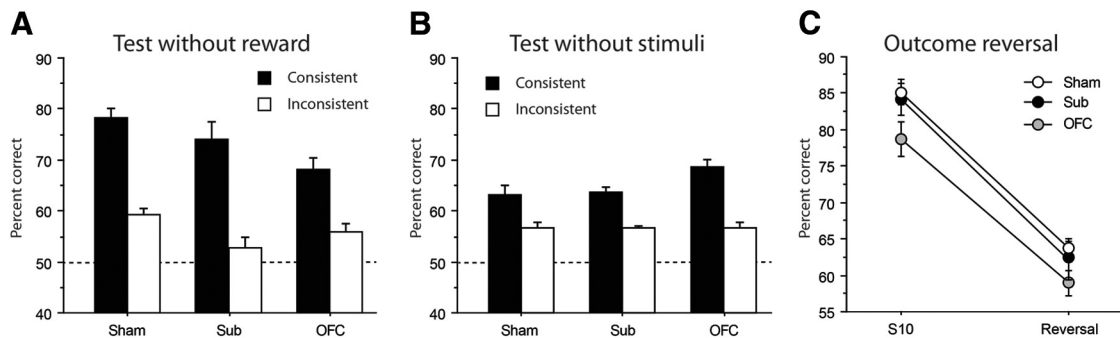


Figure 4. **A, B**, Percentage of correct responses during (**A**) the test without rewards and (**B**) the test without stimuli for Sham (left), Sub (middle), and OFC (right) groups. **C**, Percentage of correct responses during the last session of acquisition (S10) and the reversal test (reversal) conducted for Sham (white), Sub (black), and OFC (gray) rats trained with the consistent procedure. Data are expressed as mean \pm SEM.

tion task therefore revealed strong evidence of the differential outcome effect (Fig. 3, gray area) in all rats under circumstances where both the stimuli and the outcomes may support performance. The next step was to selectively assess the ability to use either only the stimuli (test without outcome, in extinction) or only the outcomes (test without stimulus) to guide behavior.

Test without outcomes (in extinction)

The test conducted in extinction follows the exact same procedures as those used during acquisition except that no rewards were delivered, i.e., both levers were inactive during this test. Performance of all groups during this single extinction session is plotted on Figure 4A. Again, the main observation was that rats previously trained with the consistent procedure maintained much better performances than rats from the Inconsistent groups, even when no feedback was provided regarding the choices made by the animals. This major observation was confirmed by a highly significant effect of Procedure ($F_{(1,51)} = 88.39$, $p < 0.0001$). Interestingly, the effect of Lesion now reached significance ($F_{(2,51)} = 5.0$, $p = 0.0104$) and a Fisher *post hoc* test confirmed that both the OFC and the Sub groups exhibited slightly reduced performance in this test (p 's < 0.05), without differing from each other ($p = 0.88$). However the Lesion \times Procedure interaction did not reach significance ($F_{(2,51)} = 2.05$, $p = 0.1394$), indicating that OFC and Sub rats exhibited slightly worse performance than Sham rats in the absence of rewards, regardless of the protocol used.

Test without stimuli

After a single reacquisition session conducted under standard conditions (stimuli and outcome present), an additional test was

proposed, during which there was no stimuli, but pressing an arbitrarily defined correct lever was rewarded with the appropriate outcome. The correct lever alternated every 5 min exactly as if the stimulus was present. The animals could therefore only rely on the outcome to guide their behavior. The performance of the different groups of rats during this test is shown in Figure 4B. While the omission of the stimuli produced a considerable reduction of performance for most groups, it was evident that rats trained with the consistent protocol continued to maintain superior performance (Procedure, $F_{(1,51)} = 77.44$, $p < 0.0001$). Again, the main effect of Lesion was significant ($F_{(2,51)} = 3.58$, $p = 0.0352$) and the *post hoc* Fisher test indicated that OFC rats outperformed both the Sham and the Sub groups (p 's < 0.05), which did not differ from each other ($p = 0.91$). Furthermore, the Lesion \times Procedure interaction was close to significance ($F_{(2,51)} = 3.02$, $p = 0.0576$), suggesting that the superior performance exhibited by OFC rats in this test was more evident when assessed with the consistent procedure. This latter possibility was further supported by a significant effect of Lesion for the consistent procedure only (Consistent: $F_{(2,25)} = 4.32$, $p = 0.0244$; Inconsistent: $F < 1$), confirming superior performance of OFC rats over both Sham and Sub rats in this instance (both p 's < 0.05).

Outcome reversal

After a final reacquisition session, a final test was conducted, during which the specific reward delivered when rats responded correctly to the current stimulus was reversed. That is, the learned S–R associations were maintained but the associated outcomes were reversed. Therefore, this test could only be conducted in the Consistent groups. To provide a more comprehensive view of

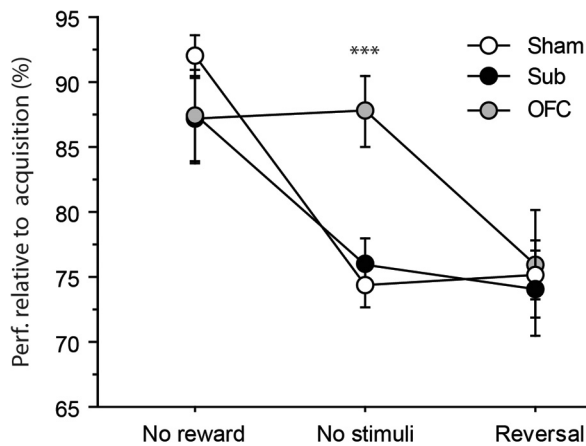


Figure 5. Differential performance during the successive tests. Performance is expressed for each test relative to the last acquisition session (percentage). Results are shown for the consistent group only in Sham (white), Sub (black), and OFC (gray) rats. Data are expressed as mean \pm SEM.

this manipulation on the level of performance, Figure 4C compares the performance for the Consistent groups in outcome reversal with the immediately preceding reacquisition session. The most striking effect was the dramatic performance drop exhibited by all groups (Session: $F_{(1,25)} = 351.03$, $p < 0.0001$). There was a moderate but significant effect of the Lesion ($F_{(2,25)} = 4.15$, $p = 0.0278$) in this instance, with OFC rats showing slightly reduced performance during these final sessions when compared with Sham ($p = 0.0105$) and, to a lesser extent, to Sub rats ($p = 0.0553$). This deficit was, however, not specific to the outcome reversal as the Lesion \times Session interaction was not significant ($F < 1$).

Comparison of the performance of the consistent groups across the three tests

To provide a more comprehensive overview of the effect of OFC and Sub lesions on the different tests examined, we performed a specific analysis for the Consistent groups only, where the performance during each test was expressed relative to that of the last session of acquisition. Thus we could treat tests as repeated measures, and focus on the critical Lesion \times Test interactions. This analysis is represented in Figure 5, which shows how the performance of Sham and lesioned rats varied as a function of the test examined. While the performance of Sham and Sub rats seemed to follow the same pattern of variations, with better performance during the extinction test, OFC rats expressed marked differences as was particularly evident during the test without stimuli, during which their performance was essentially unaffected and considerably superior to that of the other two groups. This observation was supported by a highly significant effect of Test ($F_{(2,50)} = 24.40$, $p < 0.0001$), and, importantly, by the Test \times Lesion interaction ($F_{(4,50)} = 3.87$, $p = 0.0082$), while the main effect of Lesion was not significant ($F_{(2,25)} = 1.16$, $p = 0.3301$). Specific analyses confirmed the existence of a Lesion effect for the test without stimuli ($F_{(2,25)} = 10.72$, $p = 0.0004$), where OFC rats outperformed both the Sham and the Sub groups (p 's < 0.01). Similar analyses run on the other two tests did not add any further information nor significant effect (F 's < 1).

The main findings derived from Experiment 1 were therefore that all rats exhibited strong differential outcome effect throughout all phases of testing, even if performance was impaired in both lesioned groups during the test in extinction that assessed

the ability to use stimuli as predictive cues. Interestingly, while the performance of Sham and Sub rats appeared to similarly rely on the use of the stimuli, OFC rats appeared remarkably efficient, even when the stimuli were not available, suggesting that they favor the use of outcome over the use of stimuli to guide their behavior.

Experiment 2: Pavlovian contingency degradation

Pavlovian training

During the initial Pavlovian training, all rats appeared to learn the Pavlovian contingencies similarly (data not shown). Learning was evidenced by a higher rate of visits to the magazine during the stimulus prior reward delivery as opposed to before the stimulus, as indicated by the highly significant effect of Period ($F_{(1,23)} = 86.67$, $p < 0.0001$) as well as the significant Session \times Period interaction ($F_{(1,23)} = 11.10$, $p = 0.0029$). The lack of effect of Lesion ($F < 1$) or any interaction with this factor (Session \times Lesion, Period \times Lesion, F 's < 1 ; Session \times Period \times Lesion, $F_{(2,23)} = 1.80$, $p = 0.1882$) confirmed similar Pavlovian conditioning in all rats. Moreover, the baseline, corresponding to the last session of training, was identical among the three groups (Lesion, $F < 1$).

Contingency degradation

Figure 6A shows the rate of visits to the magazine during the CS, relative to the corresponding baseline during Pavlovian training, for the cues with either degraded or nondegraded predictive value. This figure clearly shows that Sham rats visited the magazine at a much higher rate when the Pavlovian contingency was not degraded. The critical findings were, however, that neither the OFC nor the Sub rats expressed such a differential behavior as they maintain similar visit rates to the magazine for both CSs, including the one that was no longer a reliable predictor. The main effect of Lesion was not significant ($F < 1$), indicating that all rats were similar in terms of the overall number of magazine visits during the CS. However, the existence of a differential behavior in Sham and lesioned rats was confirmed by a significant effect of Degradation ($F_{(1,23)} = 14.55$, $p = 0.0009$) and, critically, by the significant Lesion \times Degradation interaction ($F_{(2,23)} = 4.54$, $p = 0.0219$). The remaining interactions did not reach significance. Separate analyses run on the different lesioned groups confirmed that Sham (Degradation: $F_{(1,6)} = 11.93$, $p = 0.0136$) but not OFC nor Sub rats ($F_{(1,9)} = 1.76$, $p = 0.2178$; $F_{(1,8)} = 1.09$, $p = 0.3279$, respectively) correctly adapted their response to the new Pavlovian contingencies.

Test without rewards (in extinction)

Figure 6B displays the rate of visits to the magazine during the first 20 seconds of the CS for the cues with either degraded or nondegraded predictive value. The most striking observation was that differential behavior in Sham but not OFC nor Sub rats was maintained even in the absence of the rewards. Thus, all statistical analyses were highly consistent with those run when the rewards were available. The main effect of Lesion was not significant ($F < 1$). The main effect of Degradation also failed to reach significance ($F_{(1,23)} = 1.40$, $p = 0.2482$), but, of prime importance, there was a significant Degradation \times Lesion interaction ($F_{(2,23)} = 3.60$, $p = 0.0436$). Separate analyses confirmed that only Sham rats appeared to modify their behavior according to the new Pavlovian contingencies (Degradation: $F_{(1,6)} = 9.80$, $p = 0.0203$), while both the OFC and the Sub rats failed to do so (Degradation: F 's < 1).

Altogether, these results therefore consistently point to an inability in both OFC and Sub animals to adapt to altered Pavlovian

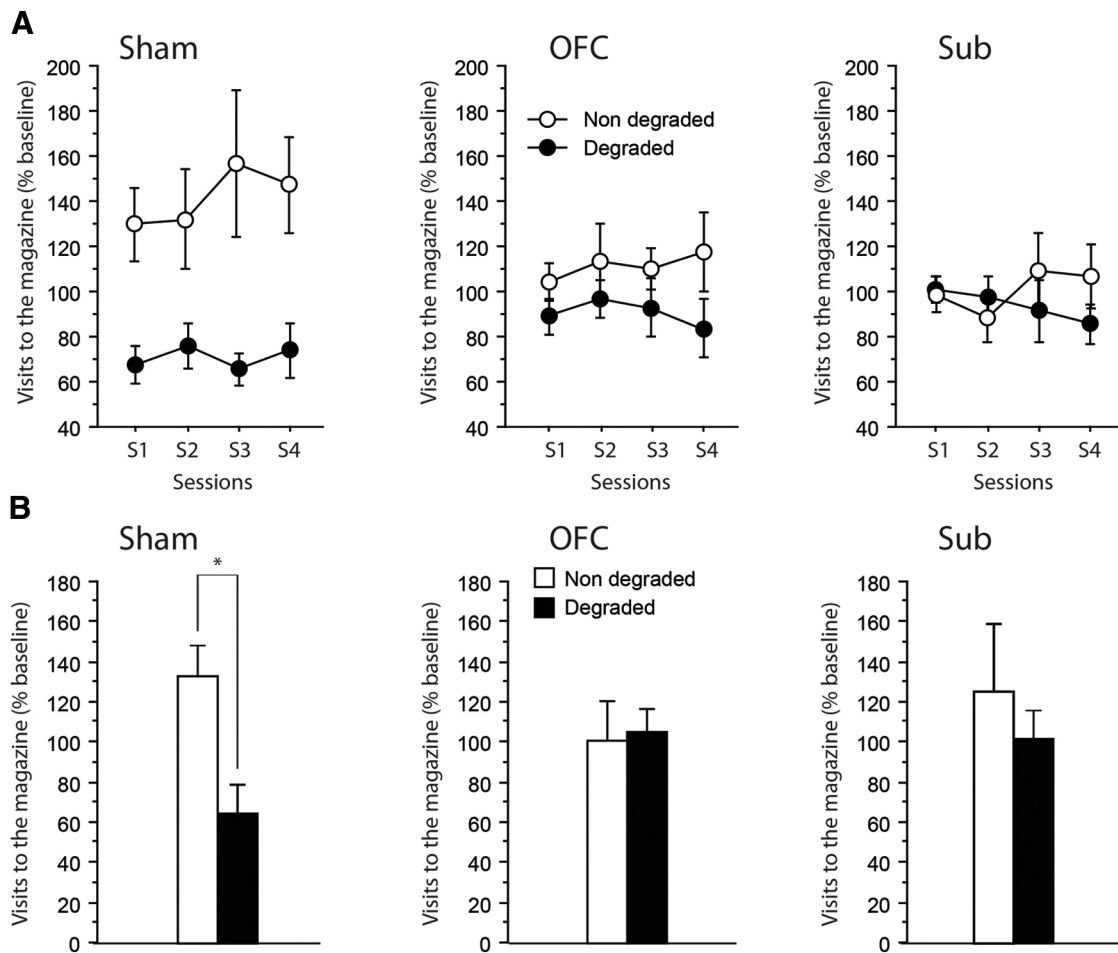


Figure 6. Degradation of Pavlovian contingencies. **A, B**, Magazine visits expressed relative to the last session of acquisition (percentage) during (**A**) acquisition of the new contingencies (4 sessions) and (**B**) the test conducted without rewards. Results are shown for the nondegraded (white) as well as the degraded (black) contingencies for Sham (left), OFC (middle), and Sub (right) groups. Data are expressed as mean \pm SEM. Degradation, $*p < 0.05$.

contingencies between a predictive cue and an outcome. However, extensive prior training in the DOE task may have influenced associative processes at play during the different phases of the Pavlovian task. To address this issue, we conducted a third experiment in naive Sham and Sub rats.

Experiment 3: Pavlovian contingency degradation in naive rats

Pavlovian training

During the initial Pavlovian training, both Sham and Sub rats appeared to learn the Pavlovian contingencies similarly (data not shown). Learning was evidenced by a progressively higher rate of visits to the magazine across training during the stimulus (before reward delivery) as opposed to before the stimulus, as indicated by the highly significant effect of Period ($F_{(1,14)} = 104.47$, $p < 0.0001$) and Block ($F_{(2,28)} = 4.82$, $p = 0.0159$), as well as the significant Block \times Period interaction ($F_{(2,28)} = 5.48$, $p = 0.0098$). All rats were found to learn the task at the same rate as neither the main effect of Lesion ($F_{(1,14)} = 1.33$, $p = 0.2677$) nor the Period \times Lesion ($F_{(1,14)} = 2.04$, $p = 0.1748$) or Block \times Lesion ($F < 1$) interaction reached significance. Moreover, the baseline, corresponding to the last session of training, was identical between the two groups (Lesion, $F < 1$). Thus, Sub lesions had no effect on the acquisition of Pavlovian conditioning in naive animals.

Contingency degradation

Figure 7A shows the rate of visits to the magazine during the CS, relative to the corresponding baseline during Pavlovian training, for the cues with either degraded or nondegraded predictive value. Only Sham rats exhibited adaptive responding, with progressively reduced responding only for the stimulus corresponding to the degraded Pavlovian association. Again, Sub rats did not express such differential behavior as they maintained similar visit rates to the magazine for both CSs, including the one that was no longer a reliable predictor. The main effect of Lesion was not significant ($F < 1$), indicating that all rats were similar in terms of the overall number of magazine visits during the CS. However, the existence of a differential behavior in Sham and Sub rats was confirmed by a significant Lesion \times Degradation interaction ($F_{(1,14)} = 6.88$, $p = 0.0201$). Separate analyses run on the two groups confirmed that Sham (Degradation: $F_{(1,7)} = 5.97$, $p = 0.0446$) but not Sub rats ($F_{(1,7)} = 1.43$, $p = 0.2703$) correctly adapted their response to the new Pavlovian contingencies.

Test without rewards (in extinction)

Figure 7B displays the rate of visits to the magazine during the first 20 seconds of the CS for the cues with either degraded or nondegraded predictive value. The most striking observation was that differential behavior in Sham but not Sub rats was maintained even in the absence of the rewards. The main effect of

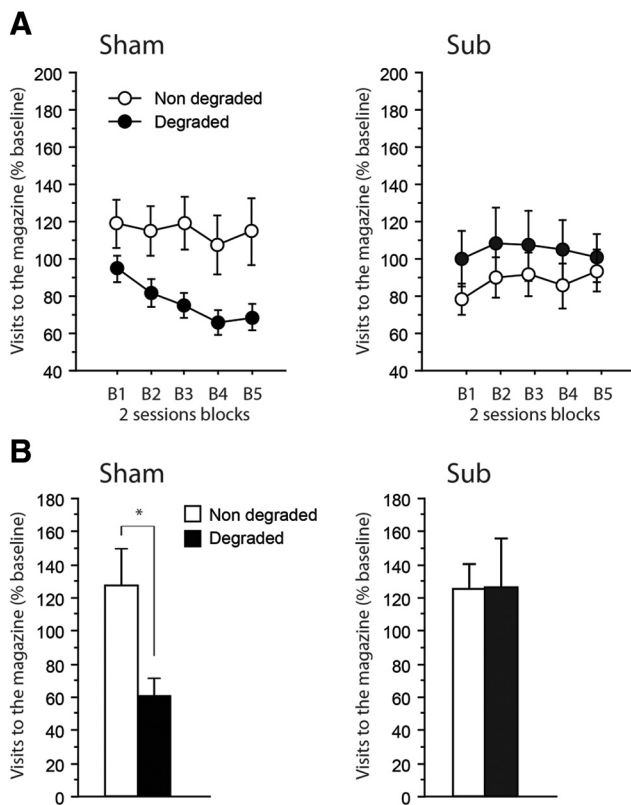


Figure 7. *A, B*, Degradation of Pavlovian contingencies. Magazine visits expressed relative to the last session of acquisition (percentage) during (*A*) acquisition of the new contingencies (5 2-session blocks) and (*B*) the test conducted without rewards. Results are shown for the non-degraded (white) as well as the degraded (black) contingencies for Sham (left) and Sub (right) groups. Data are expressed as mean \pm SEM. Degradation, $*p < 0.05$.

Lesion was not significant ($F_{(1,14)} = 1.94, p = 0.1857$), while both the main effect of Degradation ($F_{(1,14)} = 3.56, p = 0.0800$), as well as the Degradation \times Lesion interaction ($F_{(1,47)} = 3.89, p = 0.0685$) approached significance. Separate analyses confirmed that only Sham rats appeared to modify their behavior according to the new Pavlovian contingencies (Degradation: $F_{(1,7)} = 7.22, p = 0.0313$), while Sub rats failed to do so (Degradation: F 's < 1).

Altogether, these data obtained in a separate cohort of rats without prior training in the DOE task confirmed the detrimental effect of Sub lesions on the ability to adapt to altered Pavlovian contingencies between a predictive cue and an outcome.

Discussion

Altogether, the present data unambiguously identify the Sub as a prominent thalamic innervation to the OFC, functionally relevant for the flexible use of Pavlovian contingencies. Moreover, we provide a detailed analysis of the effect of OFC lesions in the DOE task. While lesions of the OFC did not impede the establishment of the DOE, all data indicated that OFC rats relied less on the discriminative stimuli and more on the outcome, consistent with the view that S–O associations are fundamentally supported by this region. By contrast, the additional recruitment of the submedial appears to be necessary only when these associations require updating.

Most if not all cortical areas can be defined by their specific thalamic afferences. Concerning the prefrontal region, the OFC was initially defined as a cortical region whose prominent thalamic projections arose from the mediodorsal thalamus (Rose and Woolsey, 1948). There is still much interest in understanding

the specific functional connectivity between these two regions in both rodents and humans (Klein et al., 2010; Jakab et al., 2012; Ewing et al., 2013), but this has somehow obscured the existence of the thalamic innervation originating from the submedial. Our own observations confirm earlier reports that the submedial provides a dense and reciprocal innervation to the ventrolateral orbitofrontal cortex (Coffield et al., 1992; Yoshida et al., 1992). Still, this innervation was left essentially unaddressed in terms of cognitive functions outside the domain of nociception (Tang et al., 2009). The present study therefore provides original insight on the functional relevance of these connections in the light of our current understanding on orbitofrontal functions.

Both the DOE task and Pavlovian contingency degradation are thought to capture the gist of orbitofrontal functions. These tasks were previously shown to be impaired by OFC lesions (McDannald et al., 2005; Ostlund and Balleine, 2007a). During acquisition of the conditional discrimination task, all experimental groups showed the DOE. In addition, there was no indication of any deficit during this phase. This lack of effect of OFC lesions appears to contradict a previous study reporting that OFC lesions impair DOE learning (McDannald et al., 2005). However, in the within-subject approach used by these authors, there was no evidence of a general deficit in performance, which is consistent with the present data, and only a careful analysis of the nature of errors in the task distinguished OFC rats from control rats. While the DOE task may not be a critical test of OFC functions, it provides a powerful way to explicitly test each of the multiple associations that may guide behavior during DOE training.

Trapold was probably the first to report that conditional discriminations based on predictive cues are learned more rapidly when distinct rewards are consistently provided for each association (Trapold, 1970; Trapold and Overmier, 1972). Of prime interest is the distinction between S–R strategies that disregard outcome identity and strategies relying on specific S–O associations that may constitute the core of OFC functions (Delamater, 2007; Ostlund and Balleine, 2007b; Balleine et al., 2011). Clearly, the importance of the DOE effect, as well as the prominent drop of performance during the reversal test in all consistent groups, is a strong indication that the rats exploited the specific nature of the outcome to perform the task. The classic interpretation posits that S–O associations between the stimulus and the sensory properties of the reward are learned by the subject and provide an outcome expectancy [E(O)] that supplements the explicit predictive cue, enabling thus to potentiate performance (Urciuoli, 2005). Superior performance in the Consistent groups may therefore result from the integration of S–O and outcome-reward (O–R) associations via E(O) to select the correct response. However, when the outcome is physically present as during training or during the test without stimuli, specific O–R associations alone may be sufficient to support performance. This is why the subsequent tests are particularly revealing as to the nature of deficits presented by OFC animals.

These tests suggest that Sham and OFC rats were primarily relying on different associations to support efficient performance. OFC rats coped better than Sham rats with the removal of the stimuli, while in the test conducted without the rewards, they showed a clear impairment. Thus, OFC rats may not primarily be using S–O associations but rather the reward itself and O–R associations to perform the task. By contrast, Sham and Sub rats appear to heavily rely on S–O associations. This view is consistent with a large body of data indicating that the role of the OFC becomes prominent when the use of S–O associations is critical for successful performance (Delamater, 2007; Ostlund and Bal-

leine, 2007b; Balleine et al., 2011). More specifically, the OFC appears particularly critical when the information delivered by predictive cues is integrated to produce expectancies or imagine future outcomes (Schoenbaum et al., 2011; Takahashi et al., 2013). In contrast, Sub rats exhibited a similar behavioral profile than Sham rats throughout the different phases of the task, although there was a modest impairment when the rewards were removed, suggesting that contrary to the OFC, this region may not be critical for the acquisition and use of S–O associations. However, while the second experiment confirmed a prominent deficit in OFC rats in the ability to adapt to changed Pavlovian contingencies, which is consistent with an earlier report (Ostlund and Balleine, 2007a), the most remarkable result was the severe deficit exhibited by Sub rats at this occasion, also confirmed in naive rats in Experiment 3. The behavior exhibited by Sham rats for Experiments 2 and 3 strongly suggests that prior training in the DOE task facilitated the subsequent establishment of Pavlovian associations as it was necessary to prolong both the initial training and the degradation phase to see the development of optimal performance in Experiment 3, without prior DOE training. Nonetheless, Sub lesions produced a strikingly similar detrimental effect on both occasions, totally sparing initial training while preventing adaptive responding during the degradation phase.

Thus, both the OFC and the Sub may be required for flexible outcome-guided behavior, a feature previously conceived as largely dependent on the OFC alone (McDannald et al., 2014). This result is of great importance as it introduces a functionally relevant thalamic stage in a circuit encompassing cortical (i.e., the OFC) and temporal (i.e., the BLA) structures concerned with the use of outcomes and values (Balleine and Killcross, 2006; Balleine et al., 2011; Parkes and Balleine, 2013).

This important result echoes recent findings showing an involvement of the parafascicular thalamic nucleus when animals were required to express flexibility after the establishment of initial learning (Bradfield et al., 2013a). Thus, the functional significance of the innervation provided by the Sub to the orbitofrontal region may be more evident when relevant information needs updating. While the present results are by themselves sufficient to identify the Sub as a critical locus for adaptive responding in the context of a Pavlovian degradation task, a disconnection procedure might address more specifically the functional interactions between the Sub and the OFC. Assessing the generality of the involvement of the Sub in adaptive processes appears as a promising avenue. This could be achieved by classical assessment of behavioral flexibility, such as response reversal learning or, alternatively, by assessment of “overexpectation” (Rescorla, 2007; Takahashi et al., 2009). This latter option appears particularly appealing as, in this situation, the subject expects a quantitatively better outcome than the actual reward, which contrasts with the degradation task, where decreased responding reflects lower expectancy of the reward as a result of the degradation procedure. Interestingly, recent views emphasize an involvement of the thalamus in the circuits that are necessary to signal discrepancies between predicted and actual outcomes (Ullsperger et al., 2014; Chase et al., 2015). Based on the present data, it is not possible to distinguish whether the thalamic submedial may be involved in monitoring outcomes or whether it more directly supports the adaptive response itself. Clarifying the relative functional contributions of the cortical and thalamic areas in these processes certainly represents a major objective for future studies.

In conclusion, we were able to partially dissociate the contri-

bution of the OFC and the thalamic submedial in the use of learned Pavlovian associations. Understanding the functional connectivity between specific thalamic areas and their related temporocortical circuits represents a major issue for the coming years (Wolff et al., 2015), with considerable relevance for many pathological conditions, such as schizophrenia (Anticevic et al., 2014) and addiction (Balleine et al., 2014).

References

- Alcaraz F, Naneix F, Desfosses E, Marchand AR, Wolff M, Coutureau E (2014) Dissociable effects of anterior and mediodorsal thalamic lesions on spatial goal-directed behavior. *Brain Struct Funct*. Advance online publication. Retrieved Aug. 25, 2015. Medline
- Anticevic A, Cole MW, Repovs G, Murray JD, Brumbaugh MS, Winkler AM, Savic A, Krystal JH, Pearlson GD, Glahn DC (2014) Characterizing thalamo-cortical disturbances in schizophrenia and bipolar illness. *Cereb Cortex* 24:3116–3130. [CrossRef Medline](#)
- Balleine BW, Killcross S (2006) Parallel incentive processing: an integrated view of amygdala function. *Trends Neurosci* 29:272–279. [CrossRef Medline](#)
- Balleine BW, Killcross AS, Dickinson A (2003) The effect of lesions of the basolateral amygdala on instrumental conditioning. *J Neurosci* 23:666–675. [Medline](#)
- Balleine BW, Leung BK, Ostlund SB (2011) The orbitofrontal cortex, predicted value, and choice. *Ann N Y Acad Sci* 1239:43–50. [CrossRef Medline](#)
- Balleine BW, Morris RW, Leung BK (2014) Thalamocortical integration of instrumental learning and performance and their disintegration in addiction. *Brain Res pii:S0006-8993(14)01692-8*. [CrossRef Medline](#)
- Blundell P, Hall G, Killcross S (2001) Lesions of the basolateral amygdala disrupt selective aspects of reinforcer representation in rats. *J Neurosci* 21:9018–9026. [Medline](#)
- Bradfield LA, Bertran-Gonzalez J, Chieng B, Balleine BW (2013a) The thalamostriatal pathway and cholinergic control of goal-directed action: interlacing new with existing learning in the striatum. *Neuron* 79:153–166. [CrossRef Medline](#)
- Bradfield LA, Hart G, Balleine BW (2013b) The role of the anterior, mediodorsal, and parafascicular thalamus in instrumental conditioning. *Front Syst Neurosci* 7:51. [CrossRef Medline](#)
- Chase HW, Kumar P, Eickhoff SB, Dombrovski AY (2015) Reinforcement learning models and their neural correlates: an activation likelihood estimation meta-analysis. *Cogn Affect Behav Neurosci* 15:435–459. [CrossRef Medline](#)
- Coffield JA, Bowen KK, Miletic V (1992) Retrograde tracing of projections between the nucleus submedial, the ventrolateral orbital cortex, and the midbrain in the rat. *J Comp Neurol* 321:488–499. [CrossRef Medline](#)
- Corbit LH, Janak PH (2010) Posterior dorsomedial striatum is critical for both selective instrumental and Pavlovian reward learning. *Eur J Neurosci* 31:1312–1321. [CrossRef Medline](#)
- Corbit LH, Muir JL, Balleine BW (2003) Lesions of mediodorsal thalamus and anterior thalamic nuclei produce dissociable effects on instrumental conditioning in rats. *Eur J Neurosci* 18:1286–1294. [CrossRef Medline](#)
- Coutureau E, Marchand AR, Di Scala G (2009) Goal-directed responding is sensitive to lesions to the prelimbic cortex or basolateral nucleus of the amygdala but not to their disconnection. *Behav Neurosci* 123:443–448. [CrossRef Medline](#)
- Delamater AR (2007) The role of the orbitofrontal cortex in sensory-specific encoding of associations in Pavlovian and instrumental conditioning. *Ann N Y Acad Sci* 1121:152–173. [CrossRef Medline](#)
- Ewing SG, Porr B, Pratt JA (2013) Deep brain stimulation of the mediodorsal thalamic nucleus yields increases in the expression of zif-268 but not c-fos in the frontal cortex. *J Chem Neuroanat* 52:20–24. [CrossRef Medline](#)
- Groenewegen HJ (1988) Organization of the afferent connections of the mediodorsal thalamic nucleus in the rat, related to the mediodorsal-prefrontal topography. *Neuroscience* 24:379–431. [CrossRef Medline](#)
- Jakab A, Blanc R, Berényi EL (2012) Mapping changes of in vivo connectivity patterns in the human mediodorsal thalamus: correlations with higher cognitive and executive functions. *Brain Imaging Behav* 6:472–483. [CrossRef Medline](#)
- Kaneko T, Saeki K, Lee T, Mizuno N (1996) Improved retrograde axonal transport and subsequent visualization of tetramethylrhodamine (TMR)-dextran amine by means of an acidic injection vehicle and antibodies against TMR. *J Neurosci Methods* 65:157–165. [CrossRef Medline](#)

- Killcross S, Coutureau E (2003) Coordination of actions and habits in the medial prefrontal cortex of rats. *Cereb Cortex* 13:400–408. [CrossRef Medline](#)
- Klein JC, Rushworth MF, Behrens TE, Mackay CE, de Crespigny AJ, D'Arceuil H, Johansen-Berg H (2010) Topography of connections between human prefrontal cortex and mediodorsal thalamus studied with diffusion tractography. *Neuroimage* 51:555–564. [CrossRef Medline](#)
- McDannald MA, Saddoris MP, Gallagher M, Holland PC (2005) Lesions of orbitofrontal cortex impair rats' differential outcome expectancy learning but not conditioned stimulus-potentiated feeding. *J Neurosci* 25:4626–4632. [CrossRef Medline](#)
- McDannald MA, Jones JL, Takahashi YK, Schoenbaum G (2014) Learning theory: a driving force in understanding orbitofrontal function. *Neurobiol Learn Mem* 108:22–27. [CrossRef Medline](#)
- Mitchell AS, Browning PG, Baxter MG (2007) Neurotoxic lesions of the medial mediodorsal nucleus of the thalamus disrupt reinforcer devaluation effects in rhesus monkeys. *J Neurosci* 27:11289–11295. [CrossRef Medline](#)
- Ostlund SB, Balleine BW (2007a) Orbitofrontal cortex mediates outcome encoding in Pavlovian but not instrumental conditioning. *J Neurosci* 27:4819–4825. [CrossRef Medline](#)
- Ostlund SB, Balleine BW (2007b) The contribution of orbitofrontal cortex to action selection. *Ann N Y Acad Sci* 1121:174–192. [CrossRef Medline](#)
- Ostlund SB, Balleine BW (2008) Differential involvement of the basolateral amygdala and mediodorsal thalamus in instrumental action selection. *J Neurosci* 28:4398–4405. [CrossRef Medline](#)
- Parkes SL, Balleine BW (2013) Incentive memory: evidence the basolateral amygdala encodes and the insular cortex retrieves outcome values to guide choice between goal-directed actions. *J Neurosci* 33:8753–8763. [CrossRef Medline](#)
- Parnaudeau S, Taylor K, Bolkan SS, Ward RD, Balsam PD, Kellendonk C (2015) Mediodorsal thalamus hypofunction impairs flexible goal-directed behavior. *Biol Psychiatry* 77:445–453. [CrossRef Medline](#)
- Pickens CL (2008) A limited role for mediodorsal thalamus in devaluation tasks. *Behav Neurosci* 122:659–676. [CrossRef Medline](#)
- Rescorla RA (2007) Renewal after overexpectation. *Learn Behav* 35:19–26. [CrossRef Medline](#)
- Rose JE, Woolsey CN (1948) The orbitofrontal cortex and its connections with the mediodorsal nucleus in rabbit, sheep and cat. *Res Publ Assoc Res Nerv Ment Dis* 27:210–232. [Medline](#)
- Rudebeck PH, Walton ME, Millette BH, Shirley E, Rushworth MF, Bannerman DM (2007) Distinct contributions of frontal areas to emotion and social behaviour in the rat. *Eur J Neurosci* 26:2315–2326. [CrossRef Medline](#)
- Schoenbaum G, Roesch MR, Stalnaker TA, Takahashi YK (2011) Orbitofrontal cortex and outcome expectancies: optimizing behavior and sensory perception. In: *Neurobiology of sensation and reward* (Gottfried JA, ed). Boca Raton, FL: CRC.
- Takahashi YK, Roesch MR, Stalnaker TA, Haney RZ, Calu DJ, Taylor AR, Burke KA, Schoenbaum G (2009) The orbitofrontal cortex and ventral tegmental area are necessary for learning from unexpected outcomes. *Neuron* 62:269–280. [CrossRef Medline](#)
- Takahashi YK, Chang CY, Lucantonio F, Haney RZ, Berg BA, Yau HJ, Bonci A, Schoenbaum G (2013) Neural estimates of imagined outcomes in the orbitofrontal cortex drive behavior and learning. *Neuron* 80:507–518. [CrossRef Medline](#)
- Tang JS, Qu CL, Huo FQ (2009) The thalamic nucleus submedialis and ventrolateral orbital cortex are involved in nociceptive modulation: a novel pain modulation pathway. *Prog Neurobiol* 89:383–389. [CrossRef Medline](#)
- Tran-Tu-Yen DA, Marchand AR, Pape JR, Di Scala G, Coutureau E (2009) Transient role of the rat prelimbic cortex in goal-directed behaviour. *Eur J Neurosci* 30:464–471. [CrossRef Medline](#)
- Trapold MA (1970) Are expectancies based upon different positive reinforcing events discriminably different? *Learn Motiv* 1:129–140. [CrossRef Medline](#)
- Trapold MA, Overmier JB (1972) The second learning process in instrumental learning. In: *Classical conditioning II: current research and theory* (Black AH, Prokasy WF, eds), pp 427–452. New York: Appleton-Century-Crofts.
- Ullsperger M, Danielmeier C, Jochem G (2014) Neurophysiology of performance monitoring and adaptive behavior. *Physiol Rev* 94:35–79. [CrossRef Medline](#)
- Urciuoli PJ (2005) Behavioral and associative effects of differential outcomes in discrimination learning. *Learn Behav* 33:1–21. [CrossRef Medline](#)
- Wolff M, Alcaraz F, Marchand AR, Coutureau E (2015) Functional heterogeneity of the limbic thalamus: from hippocampal to cortical functions. *Neurosci Biobehav Rev* 54:120–130. [CrossRef Medline](#)
- Yin HH, Ostlund SB, Knowlton BJ, Balleine BW (2005) The role of the dorsomedial striatum in instrumental conditioning. *Eur J Neurosci* 22:513–523. [CrossRef Medline](#)
- Yoshida A, Dostrovsky JO, Chiang CY (1992) The afferent and efferent connections of the nucleus submedialis in the rat. *J Comp Neurol* 324:115–133. [CrossRef Medline](#)

Discussion générale

Pris dans leur ensemble, les travaux entrepris au cours de ce travail de thèse s'inscrivent pleinement dans le contexte d'un regain d'intérêt pour les régions thalamiques, trop longtemps confinées dans un rôle passif de relai vers l'étage cortical appelé à assurer l'essentiel des processus cognitifs de haut niveau. Bien au contraire, l'ensemble des résultats obtenus suscitent de nouvelles interrogations quant à la façon dont nous appréhendons les interactions fonctionnelles au niveau de circuits distribués au sein desquels le thalamus semble apporter une contribution originale et indispensable. Avant d'en discuter plus avant les implications fonctionnelles, il convient d'en rappeler les points principaux.

Dans un premier temps, par une approche lésionnelle classique, nous avons pu vérifier que le thalamus médiodorsal semble jouer un rôle fondamental dans la représentation de la valeur du but, quand l'animal est placé dans une situation de choix. Ainsi, l'implication de cette structure dans l'action dirigée semble transcender la spécificité des protocoles comportementaux issus de la psychologie expérimentale classiquement utilisés pour modéliser ces aptitudes et s'observe également dans une situation qui pourrait apparaître plus éthologique, quand l'animal s'oriente dans l'espace sur la base de la valeur représentée de certains emplacements particuliers de cet espace. Ce résultat, allié aux données de la littérature, nous est apparu suffisant pour motiver un travail de fond visant à mieux comprendre la nature des interactions fonctionnelles entre le thalamus médiodorsal et le cortex préfrontal.

Il nous a semblé indispensable de procéder à un examen minutieux de l'organisation des projections thalamocorticales issues du thalamus médiodorsal. En effet, la littérature mentionne une implication du thalamus médiodorsal dans le contrôle de l'action dirigée mais aussi dans certains aspects liés aux contingences Pavloviennes, vraisemblablement de par des projections multiples vers les régions médianes et orbitofrontales du cortex préfrontal. Ainsi, déterminer si ces projections étaient issues des mêmes neurones ou au contraire de populations neuronales ségréguées nous a semblé de première importance pour bien appréhender la dynamique des circuits thalamocorticaux. A ce titre, les observations que nous avons faites à cette occasion ont été particulièrement instructives. D'abord, il est apparu clairement que de multiples voies thalamiques étaient issues du thalamus

médiodorsal et que les projections innervant les régions médianes et orbitofrontales du PFC étaient effectivement issues de populations neuronales presque exclusivement ségréguées, suggérant qu'elles pourraient supporter des processus dissociables. Dans le cadre de ce travail de thèse, nous nous sommes par la suite consacrés largement à l'étude de l'implication fonctionnelle de la boucle thalamocorticale reliant le segment latéral du MD avec la région dorsomédiane du PFC dans le contrôle de l'action. En effet, le travail d'anatomie descriptive nous a incidemment amené à découvrir, de façon inattendue, une innervation particulièrement dense et spécifique du cortex orbitofrontal par une région thalamique largement méconnue, le noyau submédian, et nous avons jugé prioritaire de nous saisir de l'opportunité de consacrer une étude spécifique à l'évaluation de l'apport potentiel de cette régions aux fonctions associées au cortex orbitofrontal.

Ainsi, l'étape ultime de cette thèse a consisté à éprouver les fonctions associées aux différents éléments thalamiques mis en évidence dans le cadre de circuits fonctionnels. En fonction de l'état des connaissances concernant les sites thalamiques considérés, nous avons adapté la méthode interventionniste que nous avons employée. Pour le cas du thalamus médiodorsal, cette région projetant vers l'ensemble du cortex préfrontal, il nous a semblé indispensable de sélectionner spécifiquement une voie particulière, par une stratégie d'expression conditionnelle reposant sur une approche pharmacogénétique. Dans le cas du thalamus submédian, cette région projetant uniquement vers le cortex orbitofrontal et en l'absence de données dans la littérature, il nous a semblé plus judicieux d'opter pour une stratégie lésionnelle comparée plus classique en première approche. Dans les deux cas, les enseignements sont nombreux et vont maintenant être abordés dans le détail.

I) Substrats corticaux et thalamiques de la prise de décision

1) Rôle du thalamus médiodorsal dans la prise de décision

L'implication du cortex préfrontal dans les processus adaptatifs présidant à la prise de décision a été largement étudiée et le rôle fondamental de cette région, prise dans son ensemble est à l'heure actuelle bien établi. Par comparaison, le rôle du thalamus médiodorsal n'a été que relativement faiblement étudié en dépit du constat précoce qu'il est l'afférence majeure du cortex préfrontal. Au début de ce travail de thèse, les seules

données disponibles chez le rongeur indiquaient qu'une lésion du thalamus médiodorsal altère la représentation de la valeur et de la contingence quand cette lésion est effectuée avant l'apprentissage instrumental (Corbit, Muir et Balleine, 2003) mais pas après. L'effet de la lésion semblait apparaître également dans le cas où la valeur d'une récompense annoncée par un signal prédictif était diminuée (Pickens, 2008 ; les données de cette étude ne sont toutefois pas toutes convergentes) ou lorsqu'une contingence Pavlovienne est modifiée (Ostlund et Balleine, 2008a). Sur la base de ces données, il nous a semblé que le thalamus médiodorsal était un bon candidat pour supporter les processus adaptatifs permettant la prise de décision, que les déterminants de cette prise de décision soient instrumentaux ou Pavlovien.

C'est cette hypothèse qui a motivé la mise en place d'une procédure originale permettant d'étudier la prise de décision basée sur la valeur d'une récompense, quand les déterminants permettant de la localiser sont d'ordre spatial. Pour ce faire, nous nous sommes inspirés de protocoles semblables permettant également d'étudier la représentation du but dans le cadre de déplacement dans l'espace, dans des situations de type « go / no-go » (Johnson et al., 2005), tout en privilégiant une situation de choix concurrent, analogue à celui effectué en extinction dans les paradigmes purement instrumentaux ou Pavloviens. Dans un tel cadre spatial, il a en effet déjà été proposé que le cortex préfrontal médian puisse encoder le but (Hok et al., 2005) dans le cadre d'une coopération fonctionnelle avec les circuits plus spécifiquement dévolus au traitement de l'information spatiale comme notamment l'hippocampe (Hok et al., 2013 ; De Saint Blanquat et al., 2013). Il était donc tentant d'évaluer l'implication potentielle du thalamus médiodorsal dans ce cadre.

Nos résultats indiquent clairement que la lésion du thalamus médiodorsal entraîne une insensibilité à la dévaluation lorsque les animaux doivent représenter la valeur de deux choix possibles dans le labyrinthe alors même qu'ils sont parfaitement capables d'accomplir une épreuve de mémoire de travail dans le même dispositif. En ce sens, l'effet de la lésion du thalamus médiodorsal diffère donc grandement de celle du thalamus antérieur, qui abolit la capacité des animaux à s'orienter de façon efficace dans l'espace. **Ces données sont donc de nature à souligner le caractère essentiel et spécifique de la contribution du thalamus médiodorsal dans les processus adaptatifs à la base de prise de décision, y compris dans**

une situation complexe où l'intégration de contingences instrumentales et Pavloviennes est nécessaire pour un choix optimal.

On peut par ailleurs noter dès à présent qu'il est tout à fait possible que le rôle du thalamus médiodorsal dépasse le cadre spécifique d'épreuves de dévaluation ou de dégradation de contingence et qu'il soit fondamentalement impliqué dans certains aspects communs à l'ensemble de ces situations comme les processus favorisant l'identification de la structure associative pertinente lors de l'acquisition de nouvelles informations. Nous reviendrons sur ce point plus largement dans une partie suivante.

2) Hétérogénéité fonctionnelle du cortex préfrontal

Dans le cadre de la prise de décision, l'étude de l'implication du thalamus médiodorsal a pour l'essentiel été entreprise selon le même type de stratégies que celles qui ont initialement été mise en place pour étudier le rôle du cortex préfrontal. Si les approches lésionnelles qui ont largement prévalu jusqu'à relativement récemment permettent effectivement de cibler des régions spécifiques du cortex préfrontal (par exemple, régions prélimbique *versus* infralimbique, prélimbique *versus* orbitofrontale), il n'en va pas de même pour le thalamus médiodorsal qui est nécessairement affecté dans sa globalité par de telles approches, sans même compter les régions thalamiques adjacentes qui sont presque invariablement affectées. Dans la mesure où il a été précocement établi que le thalamus médiodorsal est une afférence majeure de l'ensemble du cortex préfrontal (Rose et Woolsey, 1948), on peut déjà identifier les limites inhérentes à l'approche lésionnelle, supprimant l'ensemble des afférences thalamiques innervant des régions corticales dont les fonctions sont pourtant en grande partie dissociables. Il n'est donc pas inutile de revenir sur la relative spécialisation fonctionnelle qui semble de mise pour le cortex préfrontal, en particulier en ce qui concerne les régions dorsomédianes et orbitofrontales.

Les méthodes interventionnistes reposant sur les méthodes classiques de lésion et d'inactivation ont ainsi permis d'établir un rôle critique de la région dorsomédiane dans le contrôle de l'action, particulièrement lors de l'acquisition des contingences instrumentales (Corbit et Balleine, 2003 ; Coutureau et al., 2012 ; Killcross et Coutureau, 2003 ; Ostlund et Balleine, 2005 ; Tran-Tu-Yen et al., 2009). D'un autre côté, la région orbitofrontale semble plus spécifiquement impliquée quand les composantes Pavloviennes deviennent

prépondérantes (Gallagher, McMahan et Schoenbaum, 1999 ; Ostlund et Balleine, 2007a ; Pickens et al., 2003b, 2005). Cependant l'existence de cette dichotomie fonctionnelle a été récemment remise en cause. En effet, une étude récente de Gremel et Costa utilisant des approches aussi bien lésionnelles qu'opto- ou pharmacogénétiques, supplées de plus par des enregistrements électrophysiologiques, indique un rôle pour le cortex orbitofrontal dans le contrôle de l'action dirigée vers un but (Gremel et Costa, 2013). De façon intéressante, nous avons des résultats récents dans l'équipe qui vont également en ce sens (Parkes et al., *Double dissociation in the role of the basolateral amygdala and the insular cortex in the acquisition and performance of goal-directed actions*, présenté à la SFN, manuscrit en préparation). Par ailleurs, cette tendance est corroborée par une étude récente suggérant que le rôle de l'OFC dans l'anticipation de la récompense pourrait également être important dans le cadre d'associations instrumentales (Simon, Wood et Moghaddam, 2015). Cette vision d'un rôle général du cortex orbitofrontal dans la représentation de la récompense pour guider un choix est largement étayée par les travaux de Geoffrey Schoenbaum, qui mettent en avant le caractère essentiel de cette région non seulement dans la représentation de la valeur mais également de l'identité de la récompense (Schoenbaum et al., 2010; McDannald et al., 2014 Stalnaker et al., 2015). Ainsi, si les régions médianes et orbitofrontales jouent certainement des rôles fonctionnels différents, la vision un peu schématique d'une spécialisation dans le traitement des contingences instrumentales *versus* Pavloviennes apparaît probablement trop simpliste pour résumer la complexité de l'organisation fonctionnelle du cortex préfrontal. Il n'est d'ailleurs pas exclu que l'innervation importante issue du thalamus médiodorsal vers ces deux régions participe à cette complexité. Nous aurons l'occasion de revenir sur ce point.

3) Hétérogénéité fonctionnelle du thalamus limbique

Nous avons succinctement évoqué dans l'introduction générale de ce document que le thalamus limbique se singularise par sa grande hétérogénéité structurelle. Pour les noyaux de thalamus limbique qui ont été étudiés, les données disponibles supportent très clairement l'idée selon laquelle une grande hétérogénéité fonctionnelle en est l'écho (Wolff, Alcaraz, et al., 2015). Dans le cadre de ce travail, nous avons pu aborder la contribution d'au moins trois régions thalamiques différentes, à savoir le thalamus antérieur, le thalamus

médiodorsal, et, de façon plus inattendue, le thalamus submédian. Si le rôle du thalamus antérieur est désormais bien établi et que le cadre fonctionnel de son implication diffère clairement de celui du thalamus médiodorsal, dans un registre « relationnel » lié aux fonctions classiquement associées à l'hippocampe (Alcaraz et al., 2014 ; Wolff, Alcaraz, et al., 2015 ; Wolff, Faugère, et al., 2015), la comparaison de la contribution du thalamus submédian à celle du thalamus médiodorsal est intéressante à plusieurs titres.

D'abord, ces deux régions diffèrent au moins partiellement par leur profil de connectivité corticale. Le thalamus médiodorsal innerve l'ensemble du cortex préfrontal tandis qu'une projection dense et spécifique vers la région orbitofrontale caractérise le thalamus submédian (Manuscrit 1, Alcaraz et al., 2015). De façon intéressante, nos observations indiquent très clairement que l'injection d'un traceur rétrograde dans le cortex orbitofrontal produit bien un marquage intense à la fois au niveau du thalamus médiodorsal ainsi qu'à celui du thalamus submédian, **indiquant donc une convergence des afférences thalamiques issues de ces deux régions au niveau cortical**. Cette convergence suggère que les informations issues de ces deux voies sont qualitativement différentes et ont vocation à être intégrées au niveau du cortex orbitofrontal. Malheureusement, une difficulté majeure pour aborder l'état de l'art comparé concernant l'implication de ces deux régions est le manque de données relatives au thalamus submédian. En effet, à notre connaissance, notre étude est la seule à avoir examiné le rôle du thalamus submédian dans le cadre de fonctions cognitives. Pour autant, nous avons pu mettre en évidence un rôle tout à fait spécifique du thalamus submédian dans la mise à jour des contingences Pavloviennes (Alcaraz et al., 2015 ; **Publication 3**) et de façon particulièrement intéressante, cet effet a également été observé après la lésion du thalamus médiodorsal (Ostlund et Balleine, 2008a), y compris dans les mêmes conditions que celles employées pour étudier le thalamus submédian au sein de l'équipe (M1, Alexandre Guillou). Il semble néanmoins peu vraisemblable que les fonctions soient redondantes entre ces deux régions thalamiques. Nous faisons par conséquent l'hypothèse que ce déficit apparemment similaire après lésion de l'une ou l'autre de ces régions résulte de l'altération de processus qualitativement différents. Ainsi, notre revue des données de la littérature (Wolff, Alcaraz, et al., 2015, **Publication 1**) a souligné que l'effet d'une lésion du thalamus médiodorsal était souvent plus particulièrement évident lors de l'acquisition de nouvelles informations, ce qui a par ailleurs été observé récemment au sein de l'équipe, dans le cadre d'une épreuve de discrimination conditionnelle où la lésion du MD

retardait mais n'empêchait pas l'apprentissage d'associations entre des stimuli conditionnels et des appuis sur un levier (Wolff, Faugère, et al., 2015). Ainsi un animal qui n'a pas correctement représenté les associations spécifiques qui lui sont proposés lors de la phase de conditionnement Pavlovien sera en difficulté pour adapter son comportement de façon sélective lors de la phase de dégradation. Pour le thalamus submédian, nous faisons l'hypothèse plus parcimonieuse que cette structure serait plus spécifiquement impliquée dans la mise à jour des associations Pavloviennes, ce qui n'implique pas nécessairement un rôle de cette structure dans l'acquisition initiale des associations Pavloviennes. Ainsi, nous faisons l'hypothèse fonctionnelle provisoire d'une implication différentielle des noyaux médiodorsal et submédian dans l'acquisition *versus* la mise à jour des contingences Pavloviennes, quand bien même l'effet net visible de la lésion de l'une ou l'autre de ces structures est similaire quand la contingence Pavlovienne est manipulée de façon sélective lorsque l'animal a du encoder plusieurs associations. Cette proposition sera testée prochainement au sein de l'équipe.

II) Circuits thalamocorticaux et contrôle de l'action

A la complexité résultant de l'hétérogénéité fonctionnelle du thalamus limbique se surimpose celle plus spécifique de la connectivité différentielle des différents segments du thalamus médiodorsal. Pour pouvoir néanmoins appréhender la fonction spécifique de la voie issue du segment latéral du MD innervant la région dorsomédiane du PFC, nous avons mis en place une stratégie d'expression conditionnelle d'un récepteur DREADD inhibiteur dans les neurones thalamiques à l'origine de cette voie. Nous allons maintenant discuter des observations principales qui résultent de cette méthode.

1) Inhibition pharmacogénétique de la voie thalamocorticale

a) Représentation de la valeur

La première expérience que nous avons réalisée a produit des résultats relativement décevants. En effet, l'inhibition des neurones du MD projetant vers le cortex prélimbique n'empêche pas l'animal d'adapter ses choix lors d'un changement de la valeur, ce qui semble

en contradiction avec les données lésionnelles (Corbit, Muir et Balleine, 2003). On pourrait dans un premier temps suspecter que la stratégie mise en place soit en quelque sorte trop subtile, trop peu de neurones étant affectés pour obtenir un impact visible au plan comportemental. Néanmoins des données récentes de la littérature, pas encore disponibles au moment où ces expériences ont été réalisées contredisent cette première interprétation. En effet une approche pharmacogénétique « directe », soit non conditionnelle, est également sans effet sur la représentation de la valeur chez la Souris (Parnaudeau et al., 2015). Cette approche directe permet de produire une très forte expression du DREADD dans le MD, au prix de la perte de spécificité propre à notre méthode, mais sans pour autant obtenir d'avantage d'impact fonctionnel. Ces derniers auteurs ayant établi dans une étude précédente que l'injection systémique du ligand exogène produit une baisse de l'activité électrique des neurones thalamiques d'environ 30%, on pourrait envisager que cette baisse ne soit pas suffisante, même si ces mêmes auteurs rapportent que cette baisse est suffisante pour provoquer une asynchronie avec le cortex préfrontal (Parnaudeau et al., 2013). Il n'est pas impossible que ces résultats puissent néanmoins être modulés par la dose de CNO administrée, qui peut influencer sur l'effet comportemental (Boender et al., 2014), mais nous n'avons pas réalisé d'expériences en ce sens et nous avons employé la dose la plus standard chez le Rat de 1 mg / kg (Wess, Nakajima et Jain, 2013).

Une autre explication, propre à notre étude, concerne l'utilisation de deux *manipulanda* différents. On pourrait spéculer que la discrimination plus évidente des deux actions pourrait faciliter l'encodage des associations spécifiques. Mais les données que nous avons collectés chez des rats intacts (données non présentées), en comparant l'utilisation de deux leviers avec celle d'un levier et d'un tilt, ne vont pas en ce sens même si l'on ne peut exclure qu'il peut en être autrement pour des animaux expérimentaux. Il nous faut donc aller plus avant dans l'analyse de l'ensemble des résultats.

b) Mise à jour de la contingence instrumentale

Assurément, l'effet délétère de cette même manipulation pharmacologique observé lors du test suivant la phase de dégradation instrumentale est l'un des résultats majeurs de notre travail. Ainsi, la même manipulation qui était sans effet lors d'une épreuve de dévaluation instrumentale empêche les animaux de mettre à jour leur représentation de la

contingence entre une action et la récompense à laquelle elle permet d'accéder. Ce résultat permet d'écartier la plupart des options plus ou moins techniques que nous avons considérées pour expliquer l'absence d'effet de cette manipulation sur la représentation de la valeur. Ceci est d'autant plus frappant que ce résultat est cohérent non seulement avec les données lésionnelles (Corbit, Muir et Balleine, 2003) mais également avec l'approche pharmacogénétique « directe » précédemment évoquée (Parnaudeau et al., 2015). Ainsi donc, **les approches pharmacogénétiques suggèrent un rôle plus limité mais plus spécifique que les approches lésionnelles pour la contribution du MD dans le contrôle de l'action, avec une importance prépondérante dans la mise à jour de la contingence instrumentale, tandis que la représentation de la valeur ne semble pas particulièrement sous la dépendance de cette région thalamique.** C'est pour étayer plus avant cette dernière observation que nous avons entrepris ensuite la démarche inverse, à savoir l'inactivation pharmacogénétique des neurones corticaux qui projettent vers le thalamus médiodorsal (Figure 44).

2) Inhibition pharmacogénétique de la voie corticothalamique

De façon frappante, la stratégie interventionniste ciblant le compartiment cortical a produit les effets inverses de ceux observés en ciblant le compartiment thalamique. Ainsi, les rats ont présenté une insensibilité à la dévaluation par satiété sélective lors du test conduit en extinction mais ont été capables de mettre à jour les contingences instrumentales lors de la phase de dégradation. Notons qu'une particularité de nos résultats est que l'effet observé en ce qui concerne la dévaluation n'apparaît que si les neurones corticaux sont inactivés pendant le test. Ceci est en apparence contradiction avec les données classiques qui convergent toutes vers un rôle spécifique du cortex prélimbique dans l'acquisition des contingences instrumentales (Killcross et Coutureau, 2003 ; Ostlund et Balleine, 2005 ; Tran-Tu-Yen et al., 2009). Il est bien sûr possible d'évoquer sinon de possibles mécanismes compensatoires chez des animaux cérébro-lésés, tout au moins l'utilisation de stratégies alternatives reposant sur des circuits différents mais il nous semble plus pertinent d'aborder la dynamique des échanges fonctionnels entre les voies thalamocorticales et corticothalamiques qui se voit aborder de façon fondamentalement nouvelle par rapport à tout ce qui a été entrepris jusqu'à présent par des approches classiques.

3) Direction des échanges fonctionnels dans les circuits thalamocorticaux

Naturellement, d'autres études se sont essayées à clarifier les échanges fonctionnels entre le thalamus médiodorsal et le cortex préfrontal. L'approche classique pour déconnecter deux structures consiste à réaliser des lésions unilatérales croisées de ces deux structures, ce qui interrompt de façon raisonnablement complète les échanges entre ces structures dans la mesure où les projections croisées sont limitées. Une étude récente menée par le groupe de Bernard Balleine rapporte effectivement que cette manipulation appliquée au cortex préfrontal médian et au thalamus médiodorsal altère la capacité à mettre à jour la valeur de la récompense dans un apprentissage instrumental (Bradfield, Hart et Balleine, 2013), conformément à ce qui a été observé chez le singe (Browning, Chakraborty et Mitchell, 2015 ; Izquierdo et Murray, 2010). Néanmoins dans ce type de manipulation, toute communication entre les structures concernées est totalement abolie. Notre approche est à ce titre plus « permissive » mais aussi plus spécifique. **Sa plus grande permissivité résulte du fait que nous interrompons (ou du moins diminuons fortement) les échanges entre étages corticaux et thalamiques dans une seule direction à la fois** : lorsque nous inhibons l'activité des neurones thalamiques qui projettent vers le cortex préfrontal, nous n'intervenons pas sur les neurones corticaux qui projettent vers le thalamus médiodorsal, y compris, éventuellement, sur des neurones thalamiques actifs. Dès lors, il n'est pas forcément étonnant que la manipulation spécifique de la voie thalamocorticale ou corticothalamique produise des effets plus subtils que l'interruption de l'ensemble des voies. Ce qui est remarquable au contraire, c'est **l'implication fonctionnelle complémentaire de ces voies, que les approches classiques ne peuvent tout simplement pas appréhender**.

En ce sens, l'ensemble de nos résultats suggère que le contrôle de l'action par les circuits thalamocorticaux s'opère selon des modalités complexes. L'activité des neurones thalamiques semble essentielle pour la mise à jour de la contingence tandis que celle des neurones corticaux serait requise pour représenter la valeur (**Figure 45**).

Cette proposition fonctionnelle quand au rôle complexe des boucles thalamocorticales connectant le cortex préfrontal médian et le thalamus médiodorsal est de nature à

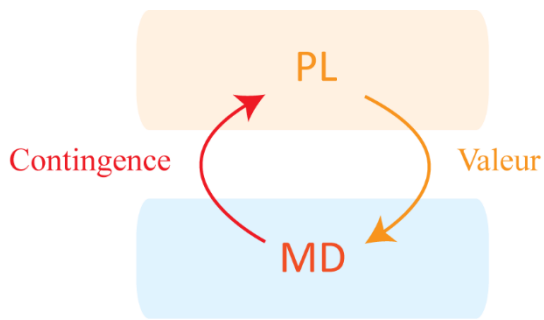


Figure 45 : Organisation des circuits thalamocorticaux et corticothalamiques dans le support des processus de contrôle de l'action

questionner notre conception du thalamus, des fonctions spécifiques de noyaux thalamiques particuliers aux fonctions générales du thalamus limbique pris dans son ensemble.

III) Implications fonctionnelles de l'organisation en boucles thalamocorticales

1) Des circuits cortico-thalamo-corticaux

Comme nous l'avons vu précédemment, la considération des données neurophysiologiques nous donne de précieux éléments pour appréhender les possibilités intégratives supplémentaires offertes par l'organisation en boucles thalamocorticales. On doit à Sherman et Guillery une contribution prépondérante en l'espèce avec notamment la proposition de distinguer les noyaux thalamiques selon l'origine des afférences directes, influant directement l'activité des neurones thalamiques (Type I, « Driver) qu'ils reçoivent : si cette origine est corticale, ces neurones appartiennent à un noyau thalamique d'ordre élevé (Guillery, 1995 ; Sherman et Guillery, 1996). C'est notamment le cas pour le thalamus médiodorsal mais cette information n'est pas connue pour le thalamus submédian (Varela, 2014), pour lequel nous avons néanmoins mis en évidence l'existence de projections corticale issues de la région orbitofrontale (**Publication 3**, Figure 1B). Un noyau d'ordre élevé a ainsi pour particularité de recevoir des informations qui ont déjà reçu un premier traitement par les structures corticales. Ces informations proviennent de la couche V d'une première structure corticale et sont ensuite à nouveau transmises au niveau cortical, mais au niveau d'une région différente que la source originale (**Figure 46A**) De façon intéressante, Sherman remarque que pour nombre de ces voies cortico-thalamo-corticales, il existe une

voie cortico-corticale directe (Sherman, 2012). La question de l'intérêt de cette étape thalamique supplémentaire peut donc se poser.

Un élément de réponse provient de l'autre type d'afférences que reçoivent les noyaux d'ordre élevé. Ainsi, ces noyaux reçoivent également des afférences modulatrices (Type II, « modulator »), non seulement de la couche VI du cortex, mais également d'autres structures sous-corticales qui n'innervent pas directement le cortex (pour le MD Kuroda et Price, 1991 ; Sherman et Guillery, 1996). Ainsi les voies de communication directes et indirectes (via le relai thalamique) entre deux régions corticales peuvent différer de par la nature des informations qu'elles véhiculent. En particulier dans le cas de la voie indirecte, il y a une possibilité de réaliser une intégration supplémentaire afin par exemple de complexifier ou d'organiser l'information transmise entre deux zones corticales via le thalamus médiodorsal (Mitchell, 2015 ; Sherman, 2012). Cette particularité semble particulièrement adaptée pour effectuer une mise à jour de représentations sous le contrôle cortical.

Par ailleurs, notons que l'implémentation de cette organisation dans le cas du MD propose un cadre de lecture innovant pour évaluer la contribution fonctionnelle de cette région non seulement aux processus gouvernés par les régions dorsomédianes et orbitofrontales du cortex préfrontal mais également à leurs possibles interactions (**Figure 46B**). Ce type de considération est par ailleurs de nature à donner un nouvel éclairage sur des données contradictoires de la littérature concernant le statut du rôle fonctionnel du cortex orbitofrontal dans l'action dirigée (Gremel et Costa, 2013 ; Ostlund et Balleine, 2007c), qui pourrait donc être dépendant d'interactions cortico-thalamo-corticales complexes, dont les tenants restent à explorer.

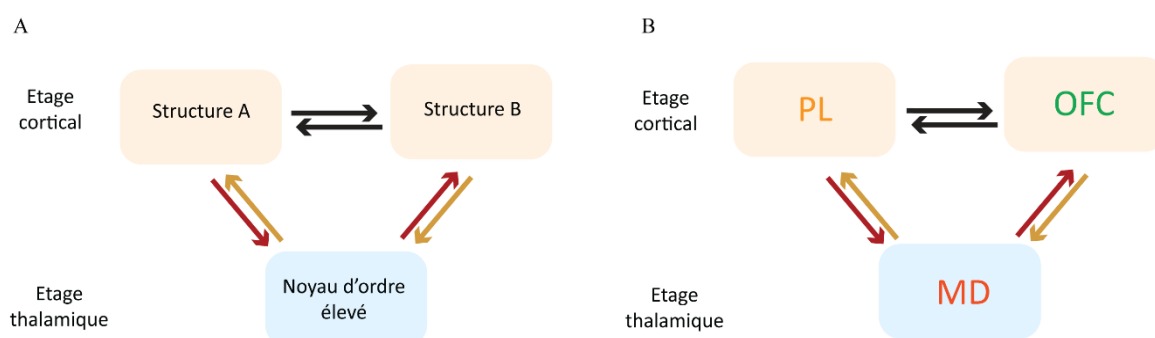


Figure 46 : (A) Organisation générale des connexions entre les noyaux thalamiques d'ordre élevé et les régions corticales. (B) Proposition d'organisation des connexions entre le thalamus médiodorsal et les régions préfrontales. Le thalamus

médiodorsal pourrait servir de relai thalamique pour établir une communication indirecte supplémentaire entre le cortex prélimbique et orbitofrontal, source d'une opportunité d'intégration supplémentaire par rapport à la voie de communication corticale directe

2) Mise à jour des représentations

Les résultats expérimentaux obtenus lors de ce travail de thèse soulignent largement que le thalamus limbique semble jouer un rôle prépondérant dans des situations qui requièrent de mettre à jour des informations préalablement acquises. Les modifications de la contingence en particulier, sont des situations dans lesquelles la contribution du thalamus limbique semble particulièrement essentielle. Ainsi, nos résultats montrent clairement que la mise à jour de la contingence instrumentale nécessite l'activation des neurones thalamiques du thalamus médiodorsal tandis que celle des contingences Pavloviennes fait intervenir également le thalamus submédian.

Le rôle particulier du thalamus médiodorsal dans ce type de processus qui implique une expression flexible des informations déjà représentées a par ailleurs été assez largement examiné dans la littérature dans d'autres types de situations comportementales qui ont pour caractéristiques de proposer un changement (Block et al., 2007 ; Floresco, Zhang et Enomoto, 2009 ; Hunt et Aggleton, 1998) voir une inversion (Chudasama, Bussey et Muir, 2001a) de la règle qui prévalait initialement. L'architecture en boucles des connections thalamocorticales semblent bien adaptée pour implémenter au plan neurobiologique la capacité à modifier une représentation existante.

De fait, ce rôle particulier du thalamus limbique peut également s'observer pour de multiples noyaux thalamiques. Des travaux récents montrent ainsi comment la lésion des noyaux de la ligne médiane ventrale (noyau reuniens) perturbe la capacité à employer une stratégie alternative dans le cadre d'un paradigme spatial (Cholvin et al., 2013). De façon intéressante, cette région est, comme le thalamus médiodorsal, également à l'interface entre le lobe temporal médian et le cortex préfrontal (Cassel et Pereira de Vasconcelos, 2015 ; Cassel et al., 2013 ; Pereira de Vasconcelos et Cassel, 2015). Toujours dans un cadre spatial, la lésion du thalamus antérieur est particulièrement dommageable lorsque l'animal doit utiliser de façon flexible sa représentation de son environnement pour s'orienter (Wolff et al., 2008), possiblement en raison de l'interruption d'un flux d'informations dans la boucle spécifique qui associe cette région au cortex rétrosplénial (Aggleton et Nelson, 2015 ; Wolff, Alcaraz, et al., 2015). Plus récemment, des résultats particulièrement intéressants

rapportent un rôle spécifique pour la région postérieure des noyaux intralaminaires, les noyaux parafasciculaires, dans la capacité à mettre à jour les contingences instrumentales (Bradfield et al., 2013). Cette dernière région thalamique présente une particularité par rapport à d'autres régions en ce qu'elle constitue l'innervation thalamique majeure du striatum dorsal (Ellender et al., 2013), structure dont le rôle déterminant dans l'action dirigée a été mentionné dans l'introduction de ce document. Cette étude fait suite à d'autres mentions d'une implication de ces projections thalamostriatales dans les comportements flexibles comme par exemple une inversion de règle (Brown, Baker et Ragozzino, 2010). Ainsi on voit se dessiner un tableau général du thalamus limbique en accord avec l'idée que **les projections spécifiques issues de ses différents constituants peuvent servir à réviser différents aspect de la représentation de la structure causale du monde.**

De ce fait, il nous est possible de proposer une version plus complète (**Figure 47**) de la figure de synthèse que nous avons proposée à l'occasion de la revue de la littérature concernant les rôles fonctionnels de thalamus antérieur et du thalamus médiodorsal (**Publication 1**). En effet, la contribution d'autres régions thalamiques peut se concevoir selon le même modèle et de plus, la contribution du thalamus médiodorsal peut certainement être déclinée en considérant plusieurs boucles thalamocorticales.

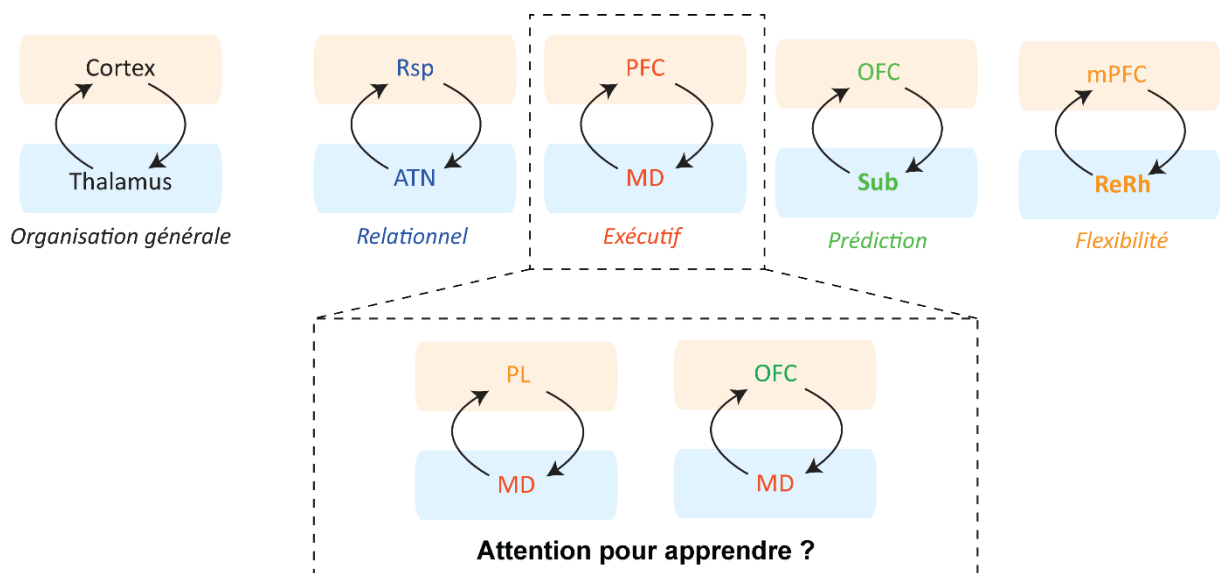


Figure 47 : (A) Organisation générale et simplifiée des projections thalamocorticales. (B) Des circuits spécifiques, supportant des fonctions singulières sous la dépendance de noyaux thalamiques particuliers peuvent être identifiés. De par sa connectivité étendue, le thalamus médiodorsal pourrait jouer un rôle plus fondamental, transcendant l'ensemble de ces fonctions.

Toutefois, cette déclinaison n'est pas encore vraiment satisfaisante car elle peine à tirer le plein parti de l'organisation en boucles qui a des implications fonctionnelles qui peuvent dépasser largement le cadre des fonctions spécifiques proposées.

3) Identification des éléments pertinents de l'environnement

Identifier les éléments pertinents de l'environnement implique de maintenir une veille attentionnelle permanente. Cette veille va permettre de détecter des événements inattendus ou des irrégularités afin, éventuellement, de mettre à jour la représentation de la structure causale de l'environnement. De façon opérationnelle, cette aptitude est nécessairement mise en œuvre dans des épreuves de dégradation de la contingence, dans lesquels le prérequis à la mise en place d'une réponse adaptée est que l'animal réalise non seulement qu'il y a un différentiel entre le résultat effectif de son action et le résultat escompté, mais également qu'il doit identifier la raison de cette évolution. Si ces épreuves ne permettent pas de déterminer avec certitude si l'incapacité des animaux à développer une réponse adaptée résulte d'un trouble de sa capacité à assurer cette veille (« monitoring ») ou bien alors à engager une action alternative plus adaptée, des données récentes plaident en faveur d'une implication préférentielle du thalamus pour la première alternative (Ullsperger et al., 2014; Chase et al., 2015). Il est clair que la capacité à maintenir cette veille est facilitée si l'individu a identifié les éléments signifiants de son environnement.

En ce sens, l'hypothèse d'un rôle privilégié du thalamus médiodorsal dans « l'attention pour apprendre » ainsi que nous l'avons proposé dans notre article de synthèse (**Publication 1**) apparaît comme une formulation alternative de la veille attentionnelle focalisée que nous évoquons ici pour assurer le « monitoring » des effets courants de l'action en cours. Si cette aptitude est certainement utile lors d'un apprentissage nouveau, comme en témoignent les déficits transitoire observés dans la phase initiale d'acquisition après lésion de cette structure, (Hunt et Aggleton, 1991, 1998 ; Peinado-Manzano et Pozo-Garcia, 1991 ; Winocur, 1985, 1990 ; Wolff, Faugère, et al., 2015), elle semble donc également nécessaire pour mettre à jour les informations déjà acquises, lorsque l'animal doit se désengager de stratégies désormais inopérantes (Block et al., 2007 ; Chudasama, Bussey et Muir, 2001a ;

Means et al., 1975 ; Tigner, 1974), ou simplement, come nous l'avons déjà vu, réviser la relation de contingence (Corbit, Muir et Balleine, 2003 ; Ostlund et Balleine, 2008a).

Cette fonction particulière du MD pourrait reposer sur des mécanismes de synchronie rythmique avec les différentes aires corticales (Miller et Buschman, 2013) qui lui sont associées par les boucles que nous avons déjà largement évoquées. A titre d'exemple, il a été montré que la synchronie des aires préfrontales, pariétales et visuelles augmente avec la focalisation visuelle (Siegel et al., 2008). De façon intéressante, Parnaudeau et collaborateurs ont mis en évidence qu'une telle synchronie était observée entre le cortex médiodorsal et le cortex préfrontal lorsque l'animal est engagé dans un comportement impliquant la représentation d'un but et cette synchronie était abolie par une inactivation même modérée du thalamus médiodorsal (Parnaudeau et al., 2013).

Au final, si l'ensemble de ces propositions repose sur des bases assez largement spéculatives, il apparaît tout de même que le rôle du thalamus limbique, et plus particulièrement du noyau médiodorsal, transcende probablement largement les fonctions spécifiques que les différents protocoles expérimentaux visent à appréhender. En effet, il est vraisemblable que notre capacité à comprendre véritablement le spectre fonctionnel de cette région soit limitée par notre connaissance encore largement incomplète de la neurophysiologie de l'architecture fonctionnelle des boucles thalamocorticales. Il est à espérer que la disponibilité d'outils d'interrogation fonctionnelle du système nerveux puisse nous assister en ce sens.

CONCLUSIONS

Pour conclure, les enseignements de ce travail sont nombreux. Nous avons alterné l'utilisation d'approches classiques, bien éprouvées, pour nous assurer d'avoir un socle suffisamment solide pour envisager des questionnements plus subtiles, que des méthodes plus fines sont seules à même de pouvoir appréhender. Si les expériences reposant sur ces méthodes plus fines, reposant sur une stratégie pharmacogénétique conditionnelle, restent à confirmer et à développer plus avant, elles ont certainement permis d'établir notre contribution la plus intéressante à plusieurs titres. Ainsi, si l'on voit se dessiner un rôle complexe pour le thalamus médiodorsal, qui peut être différent selon que l'on considère qu'il est à l'origine ou à la destination du flux d'information au sein de circuits thalamocorticaux, l'idée que la direction des échanges dans les différents circuits cérébraux soit un élément fonctionnellement pertinent semble relativement novatrice, avec des conséquences allant bien au-delà de l'étude du thalamus limbique. En effet, alors que les études fonctionnelles reposant sur des approches pharmaco- ou optogénétiques deviennent peu à peu la norme, y compris dans le cadre de stratégies conditionnelles permettant de cibler type cellulaire ou direction des échanges, à notre connaissance, aucune étude n'a à l'heure actuelle exploité cette possibilité de façon totalement aboutie, pour « déconstruire » véritablement les circuits neuronaux. Il est vraisemblable que nous soyons à l'aube d'une nouvelle génération d'études fonctionnelles, qui tireront pleinement parti du potentiel immense des nouveaux outils disponibles, qui, trop souvent, n'ont permis que d'illustrer de façon marquante ce qui était déjà connu.

Fort de ce constat sur l'apport des méthodes fines reposant sur les approches susmentionnées, l'intérêt qui nous réaffirmons dans l'étude descriptive de l'organisation du système nerveux central peut apparaître paradoxal. En effet, l'idée qui semble couramment répandue serait que l'entreprise de description de l'organisation du système nerveux central est une entreprise qui a été achevée il y a déjà bien longtemps. Pourtant, l'observation que dans nombre de publications récentes journaux de très haut rang, la première approche consiste souvent à « vérifier » l'existence d'une voie anatomique avant d'en tester les fonctions sonne comme un aveu d'échec. L'organisation générale du cerveau a en effet été largement décrite mais l'enjeu actuel repose justement sur la compréhension de la structure

fine de l'architecture cérébrale. A l'heure de l'interrogation fonctionnelle des circuits, le niveau de description au niveau des structures est trop grossier. Une partie importante du travail a été accomplie, on lui doit la disponibilité d'atlas qui nous assistent au quotidien. Ce travail forme la base à partir de laquelle organiser notre besoin d'établir une connaissance plus fine des relations multiples qui peuvent exister entre différents éléments d'un circuit. Jusqu'à présent, ce travail était essentiellement l'œuvre d'anatomistes, nous pensons qu'il doit désormais être guidé également par des considérations fonctionnelles. Par ailleurs, notre découverte presque fortuite d'un rôle fonctionnel du thalamus submédian dans des processus cognitifs de haut niveau apparaît comme le meilleur plaidoyer en ce sens.

Enfin, pour en revenir au cœur de ce travail de thèse, nos résultats participent très certainement d'un regain général d'intérêt pour la contribution fonctionnelle du thalamus. Cette structure fortement hétérogène demeure largement méconnue. Quand on se représente la difficulté à ne serait-ce que d'approcher de la compréhension du rôle exact joué par le thalamus médiodorsal, on peut être songeur en imaginant les dizaines d'autres noyaux thalamiques pour lesquels rien n'a encore été entrepris. Mais comme le suggèrent les résultats que nous avons obtenus, sans doute cette difficulté provient-elle pour une large part du fait que la structure n'est pas forcément le niveau de description le plus pertinent au plan fonctionnel. L'emploi plus systématique et éclairé des méthodes permettant de manipuler les circuits devrait à terme permettre d'envisager une lecture différente du rôle du thalamus limbique et de notre conception de son architecture fonctionnelle.

BIBLIOGRAPHIE

- Adams C.D. (1982), « Variations in the sensitivity of instrumental responding to reinforcer devaluation », *The Quarterly Journal of Experimental Psychology Section B*, vol. 34B, pp. 77-98.
- Adams C.D. et Dickinson A. (1981), « Instrumental responding following reinforcer devaluation », *The Quarterly Journal of Experimental Psychology Section B : Comparative and Physiological Psychology*, vol. 33, n°2, pp. 109-121.
- Aggleton J.P. et Brown M.W. (1999), « Episodic memory, amnesia, and the hippocampal-anterior thalamic axis. », *The Behavioral and brain sciences*, vol. 22, n°3, pp. 425-444; discussion 444-489.
- Aggleton J.P. et Nelson A.J.D. (2015), « Why do lesions in the rodent anterior thalamic nuclei cause such severe spatial deficits? », *Neuroscience and biobehavioral reviews*, vol. 54, pp. 131-144.
- Alcaraz F., Marchand a. R., Vidal E., Guillou a., Faugere a., Coutureau E. et Wolff M. (2015), « Flexible Use of Predictive Cues beyond the Orbitofrontal Cortex: Role of the Submedial Thalamic Nucleus », *Journal of Neuroscience*, vol. 35, n°38, pp. 13183-13193.
- Alcaraz F., Naneix F., Desfosses E., Marchand A.R., Wolff M. et Coutureau E. (2014), « Dissociable effects of anterior and mediodorsal thalamic lesions on spatial goal-directed behavior. », *Brain structure & function*.
- Alexander G.M., Rogan S.C., Abbas A.I., Armbruster B.N., Pei Y., Allen J.A., Nonneman R.J., Hartmann J., Moy S.S., Nicoletis M.A., McNamara J.O. et Roth B.L. (2009), « Remote control of neuronal activity in transgenic mice expressing evolved G protein-coupled receptors. », *Neuron*, vol. 63, n°1, pp. 27-39.
- Armbruster B.N., Li X., Pausch M.H., Herlitze S. et Roth B.L. (2007), « Evolving the lock to fit the key to create a family of G protein-coupled receptors potently activated by an inert ligand. », *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 104, n°12, pp. 5163-5168.
- Arnsten A.F.T. et Jin L.E. (2014), « Molecular influences on working memory circuits in dorsolateral prefrontal cortex. », *Progress in molecular biology and translational science*, vol. 122, pp. 211-231.
- Atasoy D., Aponte Y., Su H.H. et Sternson S.M. (2008), « A FLEX switch targets Channelrhodopsin-2 to multiple cell types for imaging and long-range circuit mapping. », *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, vol. 28, n°28, pp. 7025-7030.
- Balleine B.W. et Dickinson A. (2000), « The effect of lesions of the insular cortex on instrumental conditioning: evidence for a role in incentive memory. », *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, vol. 20, n°23, pp. 8954-8964.
- Balleine B.W., Davies A. et Dickinson A. (1995), « Cholecystinin attenuates incentive learning in rats », *Behav Neurosci*, vol. 109, n°2, pp. 312-319.
- Balleine B.W., Daw N.D. et O'Doherty J.P. (2008), « Multiple forms of value learning and the function of dopamine », in P.W. Glimcher, C.F. Camerer, E. Fehr et R.A. Poldrack (dir.), *Decision making and the brain*, San Diego, CA, pp. 367-388.
- Balleine B. et Dickinson A. (1992), « Signalling and incentive processes in instrumental reinforcer devaluation », *The Quarterly Journal of Experimental Psychology Section B*, pp. 37-41.
- Balleine B.W., Killcross A.S. et Dickinson A. (2003), « The effect of lesions of the basolateral amygdala on instrumental conditioning. », *The Journal of neuroscience : the official journal*

of the Society for Neuroscience, vol. 23, n°2, pp. 666-675.

- Balleine B.W. et O'Doherty J.P. (2010), « Human and rodent homologies in action control: corticostriatal determinants of goal-directed and habitual action. », *Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, vol. 35, n°1, pp. 48-69.
- Balleine B.W. et Ostlund S.B. (2007), « Still at the choice-point: action selection and initiation in instrumental conditioning. », *Annals of the New York Academy of Sciences*, vol. 1104, pp. 147-171.
- Balleine B.W. et Dickinson A. (1998), « Goal-directed instrumental action: Contingency and incentive learning and their cortical substrates », *Neuropharmacology*, vol. 37, n°4-5, pp. 407-419.
- Bechara A., Damasio A.R., Damasio H. et Anderson S.W. (1994), « Insensitivity to future consequences following damage to human prefrontal cortex. », *Cognition*, vol. 50, n°1-3, pp. 7-15.
- Berridge K.C. (2009), « Wanting and Liking: Observations from the Neuroscience and Psychology Laboratory. », *Inquiry (Oslo, Norway)*, vol. 52, n°4, pp. 378.
- Berridge K.C. (2004), « Motivation concepts in behavioral neuroscience », *Physiology and Behavior*, vol. 81, n°2, pp. 179-209.
- Birrell J.M. et Brown V.J. (2000), « Medial frontal cortex mediates perceptual attentional set shifting in the rat. », *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, vol. 20, n°11, pp. 4320-4324.
- Block A.E., Dhanji H., Thompson-Tardif S.F. et Floresco S.B. (2007), « Thalamic-prefrontal cortical-ventral striatal circuitry mediates dissociable components of strategy set shifting », *Cerebral Cortex*, vol. 17, n°7, pp. 1625-1636.
- Blundell P., Hall G. et Killcross S. (2003), « Preserved sensitivity to outcome value after lesions of the basolateral amygdala. », *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, vol. 23, n°20, pp. 7702-7709.
- Boender A.J., Jong J.W. de, Boekhoudt L., Luijendijk M.C.M., Plasse G. van der et Adan R. a H. (2014), « Combined use of the canine adenovirus-2 and DREADD-technology to activate specific neural pathways in vivo. », *PloS one*, vol. 9, n°4, pp. e95392.
- Borchgrave R. De, Rawlins J., Dickinson A. et Balleine B. (2002), « Effects of cytotoxic nucleus accumbens lesions on instrumental conditioning in rats », *Experimental Brain Research*, vol. 144, n°1, pp. 50-68.
- Bos R. van den, Koot S. et Visser L. de (2014), « A rodent version of the Iowa Gambling Task: 7 years of progress. », *Frontiers in psychology*, vol. 5, pp. 203.
- Boulougouris V., Dalley J.W. et Robbins T.W. (2007), « Effects of orbitofrontal, infralimbic and prelimbic cortical lesions on serial spatial reversal learning in the rat. », *Behavioural brain research*, vol. 179, n°2, pp. 219-228.
- Bouwmeester H., Smits K. et Ree J.M. Van (2002), « Neonatal development of projections to the basolateral amygdala from prefrontal and thalamic structures in rat », *Journal of Comparative Neurology*, vol. 450, n°3, pp. 241-255.
- Bradfield L. a, Hart G. et Balleine B.W. (2013), « The role of the anterior, mediodorsal, and parafascicular thalamus in instrumental conditioning. », *Frontiers in systems neuroscience*, vol. 7, n°October, pp. 51.
- Bradfield L., Bertran-Gonzalez J., Chieng B. et Balleine B.W. (2013), « The Thalamostriatal Pathway

- and Cholinergic Control of Goal-Directed Action: Interlacing New with Existing Learning in the Striatum », *Neuron*, vol. 79, n°1, pp. 153-166.
- Broca P. (1878), « Anatomie comparée des circonvolutions cérébrales. Le grand lobe limbique et la scissure limbique dans la série des mammifères. », *Rev Anthropol*, n°1, pp. 385-498.
- Brodman K. (1909), *Vergleichende Lokalisationslehre der Grosshirnrinde in ihren Prinzipien dargestellt auf Grund des Zellenbaues*, Leipzig, Johann Ambrosius Barth.
- Brown H.D., Baker P.M. et Ragozzino M.E. (2010), « The parafascicular thalamic nucleus concomitantly influences behavioral flexibility and dorsomedial striatal acetylcholine output in rats. », *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, vol. 30, n°43, pp. 14390-14398.
- Browning P.G.F., Chakraborty S. et Mitchell A.S. (2015), « Evidence for Mediodorsal Thalamus and Prefrontal Cortex Interactions during Cognition in Macaques. », *Cerebral cortex (New York, N.Y. : 1991)*, vol. 25, n°11, pp. 4519-4534.
- Bru T., Salinas S. et Kremer E.J. (2010), « An update on canine adenovirus type 2 and its vectors », *Viruses*, vol. 2, n°9, pp. 2134-2153.
- Burgos-Robles A., Bravo-Rivera H. et Quirk G.J. (2013), « Prelimbic and Infralimbic Neurons Signal Distinct Aspects of Appetitive Instrumental Behavior », *PLoS ONE*, vol. 8, n°2.
- Cardinal R.N., Daw N., Robbins T.W. et Everitt B.J. (2002), « Local analysis of behaviour in the adjusting-delay task for assessing choice of delayed reinforcement. », *Neural networks : the official journal of the International Neural Network Society*, vol. 15, n°4-6, pp. 617-634.
- Cardinal R.N. (2006), « Neural systems implicated in delayed and probabilistic reinforcement. », *Neural networks : the official journal of the International Neural Network Society*, vol. 19, n°8, pp. 1277-1301.
- Cardinal R.N., Winstanley C.A., Robbins T.W. et Everitt B.J. (2004), « Limbic corticostriatal systems and delayed reinforcement. », *Annals of the New York Academy of Sciences*, vol. 1021, pp. 33-50.
- Carlesimo G.A., Lombardi M.G. et Caltagirone C. (2011), « Vascular thalamic amnesia: A reappraisal », *Neuropsychologia*, vol. 49, n°5, pp. 777-789.
- Carr D.B. et Sesack S.R. (1996), « Hippocampal afferents to the rat prefrontal cortex: Synaptic targets and relation to dopamine terminals », *Journal of Comparative Neurology*, vol. 369, n°1, pp. 1-15.
- Cassel J.C., Pereira de Vasconcelos A., Loureiro M., Cholvin T., Dalrymple-Alford J.C. et Vertes R.P. (2013), « The reuniens and rhomboid nuclei: Neuroanatomy, electrophysiological characteristics and behavioral implications », *Progress in Neurobiology*, vol. 111, pp. 34-52.
- Cassel J.-C. et Pereira de Vasconcelos A. (2015), « Importance of the ventral midline thalamus in driving hippocampal functions. », *Progress in brain research*, vol. 219, pp. 145-161.
- Catania A.C. et Reynolds G.S. (1968), « A quantitative analysis of the responding maintained by interval schedules of reinforcement. », *Journal of the experimental analysis of behavior*, vol. 11, n°3, pp. Suppl:327-383.
- Choi D., Li D. et Raisman G. (2002), « Fluorescent retrograde neuronal tracers that label the rat facial nucleus: A comparison of Fast Blue, Fluoro-ruby, Fluoro-emerald, Fluoro-Gold and DiI », *Journal of Neuroscience Methods*, vol. 117, n°2, pp. 167-172.
- Cholvin T., Loureiro M., Cassel R., Cosquer B., Geiger K., Sa Nogueira D. De, Rainard H., Robelin L., Kelche C., Pereira de Vasconcelos A. et Cassel J.-C. (2013), « The ventral midline

- thalamus contributes to strategy shifting in a memory task requiring both prefrontal cortical and hippocampal functions. », *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, vol. 33, n°20, pp. 8772-8783.
- Chudasama Y., Bussey T.J. et Muir J.L. (2001a), « Effects of selective thalamic and prelimbic cortex lesions on two types of visual discrimination and reversal learning. », *The European journal of neuroscience*, vol. 14, n°6, pp. 1009-1020.
- Chudasama Y. et Robbins T.W. (2006), « Functions of frontostriatal systems in cognition: Comparative neuropsychopharmacological studies in rats, monkeys and humans », *Biological Psychology*, vol. 73, n°1, pp. 19-38.
- Chudasama Y., Bussey T.J. et Muir J.L. (2001b), « Effects of selective thalamic and prelimbic cortex lesions on two types of visual discrimination and reversal learning. », *European Journal of Neuroscience*, vol. 14, n°6, pp. 1009-1020.
- Clascá F., Rubio-Garrido P. et Jabaudon D. (2012), « Unveiling the diversity of thalamocortical neuron subtypes », *European Journal of Neuroscience*, vol. 35, n°10, pp. 1524-1532.
- Colby J.J. et Smith N.F. (1977), « The effect of three procedures for eliminating a conditioned taste aversion in the rat », *Learning and Motivation*, n°8, pp. 404-413.
- Colwill R.M. et Rescorla R.A. (1985), « Postconditioning devaluation of a reinforcer affects instrumental responding. », *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, vol. 11, n°1, pp. 120-132.
- Colwill R.M. et Rescorla R.A. (1988), « Associations between the discriminative stimulus and the reinforcer in instrumental learning. », *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, vol. 14, n°2, pp. 155-164.
- Corbit L.H. et Balleine B.W. (2000), « The role of the hippocampus in instrumental conditioning. », *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, vol. 20, n°11, pp. 4233-4239.
- Corbit L.H. et Janak P.H. (2010), « Posterior dorsomedial striatum is critical for both selective instrumental and Pavlovian reward learning », *Eur J Neurosci*, vol. 31, n°7, pp. 1312-1321.
- Corbit L.H., Muir J.L. et Balleine B.W. (2001), « The role of the nucleus accumbens in instrumental conditioning: Evidence of a functional dissociation between accumbens core and shell. », *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, vol. 21, n°9, pp. 3251-3260.
- Corbit L.H. et Balleine B.W. (2005), « Double dissociation of basolateral and central amygdala lesions on the general and outcome-specific forms of pavlovian-instrumental transfer. », *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, vol. 25, n°4, pp. 962-970.
- Corbit L.H., Ostlund S.B. et Balleine B.W. (2002), « Sensitivity to instrumental contingency degradation is mediated by the entorhinal cortex and its efferents via the dorsal hippocampus. », *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, vol. 22, n°24, pp. 10976-10984.
- Corbit L.H. et Balleine B.W. (2003), « The role of prelimbic cortex in instrumental conditioning », *Behavioural Brain Research*, vol. 146, n°1-2, pp. 145-157.
- Corbit L.H., Muir J.L. et Balleine B.W. (2003), « Lesions of mediodorsal thalamus and anterior thalamic nuclei produce dissociable effects on instrumental conditioning in rats », *European Journal of Neuroscience*, vol. 18, n°5, pp. 1286-1294.
- Coutureau E., Esclassan F., Scala G. Di et Marchand A.R. (2012), « The role of the rat medial

- prefrontal cortex in adapting to changes in instrumental contingency », *PLoS ONE*, vol. 7, n°4.
- Coutureau E. et Killcross S. (2003), « Inactivation of the infralimbic prefrontal cortex reinstates goal-directed responding in overtrained rats », *Behavioural Brain Research*, vol. 146, n°1-2, pp. 167-174.
- Coutureau E., Marchand A.R. et Scala G. Di (2009), « Goal-directed responding is sensitive to lesions to the prelimbic cortex or basolateral nucleus of the amygdala but not to their disconnection. », *Behavioral neuroscience*, vol. 123, n°2, pp. 443-448.
- Crofts H.S., Dalley J.W., Collins P., Denderen J.C. Van, Everitt B.J., Robbins T.W. et Roberts A.C. (2001), « Differential effects of 6-OHDA lesions of the frontal cortex and caudate nucleus on the ability to acquire an attentional set. », *Cerebral cortex (New York, N.Y. : 1991)*, vol. 11, n°11, pp. 1015-1026.
- Cross L., Brown M.W., Aggleton J.P. et Warburton E.C. (2012), « The medial dorsal thalamic nucleus and the medial prefrontal cortex of the rat function together to support associative recognition and recency but not item recognition. », *Learning & memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)*, vol. 20, n°1, pp. 41-50.
- Dalley J.W., Cardinal R.N. et Robbins T.W. (2004), « Prefrontal executive and cognitive functions in rodents: Neural and neurochemical substrates », *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, vol. 28, n°7, pp. 771-784.
- Dalrymple-Alford J.C., Harland B., Loukavenko E.A., Perry B., Mercer S., Collings D.A., Ulrich K., Abraham W.C., McNaughton N. et Wolff M. (2015), « Anterior thalamic nuclei lesions and recovery of function: Relevance to cognitive thalamus. », *Neuroscience and biobehavioral reviews*, vol. 54, pp. 145-160.
- Daw N.D., Niv Y. et Dayan P. (2005), « Uncertainty-based competition between prefrontal and dorsolateral striatal systems for behavioral control. », *Nature neuroscience*, vol. 8, n°12, pp. 1704-1711.
- Daw N.D., O'Doherty J.P., Dayan P., Seymour B. et Dolan R.J. (2006), « Cortical substrates for exploratory decisions in humans. », *Nature*, vol. 441, n°7095, pp. 876-879.
- Delay J. et Brion S. (1969), *Le syndrome de Korsakoff*, Paris, Masson, 170 p.
- Deng W., Goldys E.M., Farnham M.M. et Pilowsky P.M. (2014), « Optogenetics, the intersection between physics and neuroscience: light stimulation of neurons in physiological conditions », *AJP: Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, vol. 307, n°11, pp. R1292-R1302.
- Derusso A.L., Fan D., Gupta J., Shelest O., Costa R.M. et Yin H.H. (2010), « Instrumental uncertainty as a determinant of behavior under interval schedules of reinforcement. », *Frontiers in integrative neuroscience*, vol. 4.
- Dezfouli A. et Balleine B.W. (2013), « Actions, Action Sequences and Habits: Evidence That Goal-Directed and Habitual Action Control Are Hierarchically Organized », *PLoS Computational Biology*, vol. 9, n°12.
- Dezfouli A., Lingawi N. et Balleine B.W. (2014), « Habits as action sequences: hierarchical action control and changes in outcome value. », *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*.
- Dias R., Robbins T.W. et Roberts A.C. (1996), « Dissociation in prefrontal cortex of affective and attentional shifts. », *Nature*, vol. 380, n°6569, pp. 69-72.
- Dias-Ferreira E., Sousa J.C., Melo I., Morgado P., Mesquita A.R., Cerqueira J.J., Costa R.M. et Sousa N. (2009), « Chronic stress causes frontostriatal reorganization and affects decision-

- making. », *Science (New York, N.Y.)*, vol. 325, n°5940, pp. 621-625.
- Dickinson A. et Mulatero C.W. (1989), « Reinforcer specificity of the suppression of instrumental performance on a non-contingent schedule. », *Behavioural processes*, vol. 19, n°1-3, pp. 167-180.
- Dickinson A. (1985), « Actions and Habits: The Development of Behavioural Autonomy », *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, vol. 308, n°1135, pp. 67-78.
- Dickinson A., Watt A. et Griffiths W.J.H. (1992), « Free-operant acquisition with delayed reinforcement », *The Quarterly Journal of Experimental Psychology Section B*, vol. 45, n°3, pp. 241-258.
- Ellender T.J., Harwood J., Kosillo P., Capogna M. et Bolam J.P. (2013), « Heterogeneous properties of central lateral and parafascicular thalamic synapses in the striatum. », *The Journal of physiology*, vol. 591, n°Pt 1, pp. 257-272.
- Ernst M. et Paulus M.P. (2005), « Neurobiology of decision making: a selective review from a neurocognitive and clinical perspective. », *Biological psychiatry*, vol. 58, n°8, pp. 597-604.
- Everitt B.J. et Stacey P. (1987), « Studies of instrumental behavior with sexual reinforcement in male rats (*Rattus norvegicus*): II. Effects of preoptic area lesions, castration, and testosterone. », *Journal of comparative psychology (Washington, D.C. : 1983)*, vol. 101, n°4, pp. 407-419.
- Faure A., Haberland U., Condé F. et Massioui N. El (2005), « Lesion to the nigrostriatal dopamine system disrupts stimulus-response habit formation. », *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, vol. 25, n°11, pp. 2771-2780.
- Ferster C.B. et Skinner B.F. (1957), *Schedules of reinforcement*.
- Floresco S.B., Ghods-Sharifi S., Vexelman C. et Magyar O. (2006), « Dissociable roles for the nucleus accumbens core and shell in regulating set shifting. », *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, vol. 26, n°9, pp. 2449-2457.
- Floresco S.B. et Jentsch J.D. (2011), « Pharmacological enhancement of memory and executive functioning in laboratory animals. », *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, vol. 36, n°1, pp. 227-250.
- Floresco S.B., Magyar O., Ghods-Sharifi S., Vexelman C. et Tse M.T.L. (2006), « Multiple dopamine receptor subtypes in the medial prefrontal cortex of the rat regulate set-shifting. », *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, vol. 31, n°2, pp. 297-309.
- Floresco S.B., Zhang Y. et Enomoto T. (2009), « Neural circuits subserving behavioral flexibility and their relevance to schizophrenia », *Behavioural Brain Research*, vol. 204, n°2, pp. 396-409.
- Fuster J.M. (2001), « The prefrontal cortex - An update: Time is of the essence », *Neuron*, vol. 30, n°2, pp. 319-333.
- Gabbott P.L.A., Warner T.A., Jays P.R.L.L., Salway P. et Busby S.J. (2005), « Prefrontal cortex in the rat: Projections to subcortical autonomic, motor, and limbic centers », *The Journal of Comparative Neurology*, vol. 492, n°2, pp. 145-177.
- Gabbott P.L. a, Warner T. a., Jays P.R.L. et Bacon S.J. (2003), « Areal and synaptic interconnectivity of prelimbic (area 32), infralimbic (area 25) and insular cortices in the rat », *Brain Research*, vol. 993, n°1-2, pp. 59-71.
- Gallagher M., McMahan R.W. et Schoenbaum G. (1999), « Orbitofrontal cortex and representation of incentive value in associative learning. », *The Journal of neuroscience : the official journal*

of the Society for Neuroscience, vol. 19, n°15, pp. 6610-6614.

- Garcia J., Kimeldorf D.J. et Koelling R.A. (1955), « Conditioned aversion to saccharin resulting from exposure to gamma radiation. », *Science (New York, N.Y.)*, vol. 122, n°3160, pp. 157-158.
- Gläscher J., Hampton A.N. et O'Doherty J.P. (2009), « Determining a role for ventromedial prefrontal cortex in encoding action-based value signals during reward-related decision making. », *Cerebral cortex (New York, N.Y. : 1991)*, vol. 19, n°2, pp. 483-495.
- Glimcher P. (2002), « Decisions, decisions, decisions: choosing a biological science of choice. », *Neuron*, vol. 36, n°2, pp. 323-332.
- Goldman-Rakic P.S. et Porrino L.J. (1985), « The primate mediodorsal (MD) nucleus and its projection to the frontal lobe. », *The Journal of comparative neurology*, vol. 242, n°4, pp. 535-560.
- Goto Y. et Grace A.A. (2005), « Dopaminergic modulation of limbic and cortical drive of nucleus accumbens in goal-directed behavior. », *Nature neuroscience*, vol. 8, n°6, pp. 805-812.
- Grant D.A. et Berg E. (1948), « A behavioral analysis of degree of reinforcement and ease of shifting to new responses in Weigl-type card-sorting problem », *Journal of Experimental Psychology*, vol. 38, pp. 404-411.
- Graybiel A.M. (2008), « Habits, rituals, and the evaluative brain. », *Annual review of neuroscience*, vol. 31, pp. 359-387.
- Gremel C.M. et Costa R.M. (2013), « Orbitofrontal and striatal circuits dynamically encode the shift between goal-directed and habitual actions. », *Nature communications*, vol. 4, pp. 2264.
- Groenewegen H.J. (1988), « Organization of the afferent connections of the mediodorsal thalamic nucleus in the rat, related to the mediodorsal-prefrontal topography. », *Neuroscience*, vol. 24, n°2, pp. 379-431.
- Groenewegen H.J. et Berendse H.W. (1994), « The specificity of the “nonspecific” midline and intralaminar thalamic nuclei », *Trends in Neurosciences*, vol. 17, n°2, pp. 52-57.
- Guillery R.W. (1995), « Anatomical evidence concerning the role of the thalamus in corticocortical communication: a brief review. », *Journal of anatomy*, vol. 187 (Pt 3, pp. 583-592.
- Haber S.N., Kim K.-S., Maily P. et Calzavara R. (2006), « Reward-related cortical inputs define a large striatal region in primates that interface with associative cortical connections, providing a substrate for incentive-based learning. », *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, vol. 26, n°32, pp. 8368-8376.
- Hammond L.J. (1980), « The effect of contingency upon the appetitive conditioning of free-operant behavior. », *Journal of the experimental analysis of behavior*, vol. 34, n°3, pp. 297-304.
- Hampstead B.M. et Koffler S.P. (2009), « Thalamic contributions to anterograde, retrograde, and implicit memory: a case study. », *The Clinical neuropsychologist*, vol. 23, n°7, pp. 1232-1249.
- Hampton A.N., Bossaerts P. et O'Doherty J.P. (2006), « The role of the ventromedial prefrontal cortex in abstract state-based inference during decision making in humans. », *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, vol. 26, n°32, pp. 8360-8367.
- Harding A., Halliday G., Caine D. et Kril J. (2000), « Degeneration of anterior thalamic nuclei differentiates alcoholics with amnesia. », *Brain : a journal of neurology*, vol. 123 (Pt 1, pp. 141-154.

- Hart G., Leung B.K. et Balleine B.W. (2014), « Dorsal and ventral streams: the distinct role of striatal subregions in the acquisition and performance of goal-directed actions. », *Neurobiology of Learning and Memory*, vol. 108, pp. 104-118.
- Heidbreder C.A. et Groenewegen H.J. (2003), « The medial prefrontal cortex in the rat: evidence for a dorso-ventral distinction based upon functional and anatomical characteristics », *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, vol. 27, n°6, pp. 555-579.
- Hirel J., Gaussier P., Quoy M., Banquet J.P., Save E. et Poucet B. (2013), « The hippocampo-cortical loop: spatio-temporal learning and goal-oriented planning in navigation. », *Neural networks : the official journal of the International Neural Network Society*, vol. 43, pp. 8-21.
- Hitchcott P.K., Quinn J.J. et Taylor J.R. (2007), « Bidirectional modulation of goal-directed actions by prefrontal cortical dopamine », *Cerebral Cortex*, vol. 17, n°12, pp. 2820-2827.
- Hok V., Save E., Lenck-Santini P.P. et Poucet B. (2005), « Coding for spatial goals in the prelimbic/infralimbic area of the rat frontal cortex. », *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 102, n°12, pp. 4602-4607.
- Hok V., Chah E., Save E. et Poucet B. (2013), « Prefrontal cortex focally modulates hippocampal place cell firing patterns. », *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, vol. 33, n°8, pp. 3443-3451.
- Holland P.C. (1990), « Event representation in Pavlovian conditioning: image and action », *Cognition*, vol. 37, n°1-2, pp. 105-131.
- Holland P.C. et Rescorla R.A. (1975), « The effects of two ways of devaluing the unconditioned stimulus after first- and second-order appetitive conditioning », *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, n°1, pp. 355-363.
- Holland P.C. et Straub J.J. (1979), « Differential effects of two ways of devaluing the unconditioned stimulus after Pavlovian appetitive conditioning », *J Exp Psychol Anim Behav Process*, vol. 5, n°1, pp. 65-78.
- Hoover W.B. et Vertes R.P. (2007), « Anatomical analysis of afferent projections to the medial prefrontal cortex in the rat. », *Brain structure & function*, vol. 212, n°2, pp. 149-179.
- Hoover W.B. et Vertes R.P. (2011), « Projections of the medial orbital and ventral orbital cortex in the rat », *Journal of Comparative Neurology*, vol. 519, n°18, pp. 3766-3801.
- Hull C. (1943), *Principles of behavior*, New York, Appleton-Century.
- Hunt P.R. et Aggleton J.P. (1991), « Medial dorsal thalamic lesions and working memory in the rat. », *Behavioral and neural biology*, vol. 55, n°2, pp. 227-246.
- Hunt P.R. et Aggleton J.P. (1998), « Neurotoxic lesions of the dorsomedial thalamus impair the acquisition but not the performance of delayed matching to place by rats: a deficit in shifting response rules. », *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, vol. 18, n°23, pp. 10045-10052.
- Ito S., Stuphorn V., Brown J.W. et Schall J.D. (2003), « Performance monitoring by the anterior cingulate cortex during saccade countermanding. », *Science (New York, N.Y.)*, vol. 302, n°5642, pp. 120-122.
- Izquierdo A. et Murray E.A. (2010), « Functional interaction of medial mediodorsal thalamic nucleus but not nucleus accumbens with amygdala and orbital prefrontal cortex is essential for adaptive response selection after reinforcer devaluation. », *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, vol. 30, n°2, pp. 661-669.
- Izquierdo A., Suda R.K. et Murray E.A. (2004), « Bilateral orbital prefrontal cortex lesions in rhesus

- monkeys disrupt choices guided by both reward value and reward contingency. », *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, vol. 24, n°34, pp. 7540-7548.
- Jankowski M.M., Ronnqvist K.C., Tsanov M., Vann S.D., Wright N.F., Erichsen J.T., Aggleton J.P. et O'Mara S.M. (2013), « The anterior thalamus provides a subcortical circuit supporting memory and spatial navigation. », *Frontiers in systems neuroscience*, vol. 7, pp. 45.
- Jay T.M. et Witter M.P. (1991), « Distribution of hippocampal CA1 and subicular efferents in the prefrontal cortex of the rat studied by means of anterograde transport of Phaseolus vulgaris-leucoagglutinin », *Journal of Comparative Neurology*, vol. 313, n°4, pp. 574-586.
- Johnson A.W., Bannerman D.M., Rawlins N.P., Sprengel R. et Good M.A. (2005), « Impaired outcome-specific devaluation of instrumental responding in mice with a targeted deletion of the AMPA receptor glutamate receptor 1 subunit. », *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, vol. 25, n°9, pp. 2359-2365.
- Johnson A.W., Gallagher M. et Holland P.C. (2009), « The basolateral amygdala is critical to the expression of pavlovian and instrumental outcome-specific reinforcer devaluation effects », *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, vol. 29, n°3, pp. 696-704.
- Jongen-Rêlo A.L., Kaufmann S. et Feldon J. (2003), « A differential involvement of the shell and core subterritories of the nucleus accumbens of rats in memory processes. », *Behavioral neuroscience*, vol. 117, n°1, pp. 150-168.
- Kamin L.J. (1968), « "Attention-like" processes in classical conditioning. », in M R Jones (dir.), *Miami symposium on the prediction of behavior : Aversive stimulation*, Coral Gables, FL : University of Miami Press.
- Kaneko T., Saeki K., Lee T. et Mizuno N. (1996), « Improved retrograde axonal transport and subsequent visualization of tetramethylrhodamine (TMR) -dextran amine by means of an acidic injection vehicle and antibodies against TMR. », *Journal of neuroscience methods*, vol. 65, n°2, pp. 157-165.
- Kelley A.E., Smith-Roe S.L. et Holahan M.R. (1997), « Response-reinforcement learning is dependent on N-methyl-D-aspartate receptor activation in the nucleus accumbens core », *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 94, n°22, pp. 12174-12179.
- Kelley A.E. (2004), « Memory and addiction: shared neural circuitry and molecular mechanisms. », *Neuron*, vol. 44, n°1, pp. 161-179.
- Killcross S. et Coutureau E. (2003), « Coordination of actions and habits in the medial prefrontal cortex of rats », *Cerebral Cortex*, vol. 13, n°4, pp. 400-408.
- Kimble G.A. (1947), « Conditioning as a function of the time between conditioned and unconditioned stimuli », *J Exp Psychol*, vol. 37, n°1, pp. 1-15.
- Kopelman M.D., Thomson A.D., Guerrini I. et Marshall E.J. (2009), « The korsakoff syndrome: Clinical aspects, psychology and treatment », *Alcohol and Alcoholism*, vol. 44, n°2, pp. 148-154.
- Kril J.J. et Harper C.G. (2012), « Neuroanatomy and neuropathology associated with Korsakoff's syndrome. », *Neuropsychology review*, vol. 22, n°2, pp. 72-80.
- Kuroda M. et Price J.L. (1991), « Ultrastructure and synaptic organization of axon terminals from brainstem structures to the mediodorsal thalamic nucleus of the rat. », *The Journal of comparative neurology*, vol. 313, n°3, pp. 539-552.

- Levy R. et Goldman-Rakic P.S. (2000), « Segregation of working memory functions within the dorsolateral prefrontal cortex. », *Experimental brain research*, vol. 133, n°1, pp. 23-32.
- Lex B. et Hauber W. (2010a), « The role of dopamine in the prelimbic cortex and the dorsomedial striatum in instrumental conditioning », *Cerebral Cortex*, vol. 20, n°4, pp. 873-883.
- Lex B. et Hauber W. (2010b), « The role of nucleus accumbens dopamine in outcome encoding in instrumental and Pavlovian conditioning. », *Neurobiology of learning and memory*, vol. 93, n°2, pp. 283-290.
- Lex B. et Hauber W. (2010c), « Disconnection of the entorhinal cortex and dorsomedial striatum impairs the sensitivity to instrumental contingency degradation. », *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, vol. 35, n°8, pp. 1788-1796.
- Lingawi N.W. et Balleine B.W. (2012), « Amygdala central nucleus interacts with dorsolateral striatum to regulate the acquisition of habits. », *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, vol. 32, n°3, pp. 1073-1081.
- Lopez M., Balleine B. et Dickinson A. (1992), « Incentive learning following reinforcer devaluation is not conditional upon the motivational state during re-exposure. », *The Quarterly journal of experimental psychology. B, Comparative and physiological psychology*, vol. 45, n°4, pp. 265-284.
- Macchi G. et Bentivoglio M. (1999), « Is the “nonspecific” thalamus still “nonspecific”? », *Archives Italiennes de Biologie*, vol. 137, n°2-3, pp. 201-226.
- Machado C.J. et Bachevalier J. (2007), « The effects of selective amygdala, orbital frontal cortex or hippocampal formation lesions on reward assessment in nonhuman primates. », *The European journal of neuroscience*, vol. 25, n°9, pp. 2885-2904.
- Málková L., Gaffan D. et Murray E.A. (1997), « Excitotoxic lesions of the amygdala fail to produce impairment in visual learning for auditory secondary reinforcement but interfere with reinforcer devaluation effects in rhesus monkeys. », *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, vol. 17, n°15, pp. 6011-6020.
- Malvaez M., Greenfield V.Y., Wang A.S., Yorita A.M., Feng L., Linker K.E., Monbouquette H.G. et Wassum K.M. (2015), « Basolateral amygdala rapid glutamate release encodes an outcome-specific representation vital for reward-predictive cues to selectively invigorate reward-seeking actions », *Scientific Reports*, vol. 5, pp. 12511.
- Matsumoto M., Matsumoto K., Abe H. et Tanaka K. (2007), « Medial prefrontal cell activity signaling prediction errors of action values. », *Nature neuroscience*, vol. 10, n°5, pp. 647-656.
- Mátyás F., Lee J., Shin H.-S. et ACSÁDY L. (2014), « The fear circuit of the mouse forebrain: connections between the mediodorsal thalamus, frontal cortices and basolateral amygdala », *European Journal of Neuroscience*, vol. 39, n°11, pp. 1810-1823.
- McClure S.M., Berns G.S. et Montague P.R. (2003), « Temporal prediction errors in a passive learning task activate human striatum », *Neuron*, vol. 38, n°2, pp. 339-346.
- McDannald M.A., Jones J.L., Takahashi Y.K. et Schoenbaum G. (2014), « Learning theory: a driving force in understanding orbitofrontal function », *Neurobiol Learn Mem*, vol. 108, pp. 22-27.
- McDannald M.A., Saddoris M.P., Gallagher M. et Holland P.C. (2005), « Lesions of orbitofrontal cortex impair rats' differential outcome expectancy learning but not conditioned stimulus-potentiated feeding. », *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, vol. 25, n°18, pp. 4626-4632.
- Means L.W., Hershey A.E., Waterhouse G.J. et Lane C.J. (1975), « Effects of dorsomedial thalamic

- lesions on spatial discrimination reversal in the rat. », *Physiology & behavior*, vol. 14, n°6, pp. 725-729.
- Miller E.K. et Buschman T.J. (2013), « Cortical circuits for the control of attention. », *Current opinion in neurobiology*, vol. 23, n°2, pp. 216-222.
- Mitchell A.S. (2015), « The mediodorsal thalamus as a higher order thalamic relay nucleus important for learning and decision-making », *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, vol. 54, pp. 76-88.
- Mulder A.B., Nordquist R.E., Örgüt O. et Pennartz C.M.A. (2003), « Learning-related changes in response patterns of prefrontal neurons during instrumental conditioning », *Behavioural Brain Research*, vol. 146, n°1-2, pp. 77-88.
- Murray E.A. et Izquierdo A. (2007), « Orbitofrontal cortex and amygdala contributions to affect and action in primates. », *Annals of the New York Academy of Sciences*, vol. 1121, pp. 273-296.
- Naneix F., Marchand A.R., Pichon A., Pape J.-R. et Coutureau E. (2013), « Adolescent stimulation of D2 receptors alters the maturation of dopamine-dependent goal-directed behavior. », *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, vol. 38, n°8, pp. 1566-1574.
- Naneix F., Marchand A.R., Scala G. Di, Pape J.-R. et Coutureau E. (2009), « A role for medial prefrontal dopaminergic innervation in instrumental conditioning. », *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, vol. 29, n°20, pp. 6599-6606.
- Naneix F., Marchand A.R., Scala G. Di, Pape J.-R. et Coutureau E. (2012), « Parallel maturation of goal-directed behavior and dopaminergic systems during adolescence. », *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, vol. 32, n°46, pp. 16223-16232.
- Niv Y., Joel D. et Dayan P. (2006), « A normative perspective on motivation. », *Trends in cognitive sciences*, vol. 10, n°8, pp. 375-381.
- Novikova L., Novikov L. et Kellerth J.O. (1997), « Persistent neuronal labeling by retrograde fluorescent tracers: A comparison between Fast Blue, Fluoro-Gold and various dextran conjugates », *Journal of Neuroscience Methods*, vol. 74, n°1, pp. 9-15.
- O'Doherty J., Kringelbach M.L., Rolls E.T., Hornak J. et Andrews C. (2001), « Abstract reward and punishment representations in the human orbitofrontal cortex. », *Nature neuroscience*, vol. 4, n°1, pp. 95-102.
- O'Doherty J., Dayan P., Schultz J., Deichmann R., Friston K. et Dolan R.J. (2004), « Dissociable roles of ventral and dorsal striatum in instrumental conditioning. », *Science (New York, N.Y.)*, vol. 304, n°5669, pp. 452-454.
- O'Doherty J.P., Dayan P., Friston K., Critchley H. et Dolan R.J. (2003), « Temporal difference models and reward-related learning in the human brain », *Neuron*, vol. 38, n°2, pp. 329-337.
- Ongur D. (2000), « The Organization of Networks within the Orbital and Medial Prefrontal Cortex of Rats, Monkeys and Humans », *Cerebral Cortex*, vol. 10, n°3, pp. 206-219.
- Opris I. et Casanova M.F. (2014), « Prefrontal cortical minicolumn: from executive control to disrupted cognitive processing. », *Brain : a journal of neurology*, vol. 137, n°Pt 7, pp. 1863-1875.
- Opris I., Santos L., Gerhardt G.A., Song D., Berger T.W., Hampson R.E. et Deadwyler S.A. (2013), « Prefrontal cortical microcircuits bind perception to executive control. », *Scientific reports*, vol. 3, pp. 2285.

- Orsini C.A., Moorman D.E., Young J.W., Setlow B. et Floresco S.B. (2015), « Neural mechanisms regulating different forms of risk-related decision-making: Insights from animal models. », *Neuroscience and biobehavioral reviews*.
- Ostlund S.B. et Balleine B.W. (2007a), « Orbitofrontal cortex mediates outcome encoding in Pavlovian but not instrumental conditioning », *J Neurosci*, vol. 27, n°18, pp. 4819-4825.
- Ostlund S.B. et Balleine B.W. (2008a), « Differential involvement of the basolateral amygdala and mediodorsal thalamus in instrumental action selection », *J Neurosci*, vol. 28, n°17, pp. 4398-4405.
- Ostlund S.B. et Balleine B.W. (2005), « Lesions of medial prefrontal cortex disrupt the acquisition but not the expression of goal-directed learning. », *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, vol. 25, n°34, pp. 7763-7770.
- Ostlund S.B. et Balleine B.W. (2007b), « Orbitofrontal cortex mediates outcome encoding in Pavlovian but not instrumental conditioning. », *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, vol. 27, n°18, pp. 4819-4825.
- Ostlund S.B. et Balleine B.W. (2008b), « Differential involvement of the basolateral amygdala and mediodorsal thalamus in instrumental action selection. », *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, vol. 28, n°17, pp. 4398-4405.
- Ostlund S.B. et Balleine B.W. (2007c), « The contribution of orbitofrontal cortex to action selection », *Annals of the New York Academy of Sciences*, vol. 1121, pp. 174-192.
- Papez J.W. (1995), « A proposed mechanism of emotion. 1937. », *The Journal of neuropsychiatry and clinical neurosciences*, vol. 7, n°1, pp. 103-112.
- Parkes S.L. et Balleine B.W. (2013), « Incentive memory: evidence the basolateral amygdala encodes and the insular cortex retrieves outcome values to guide choice between goal-directed actions. », *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, vol. 33, n°20, pp. 8753-8763.
- Parkes S.L., Bradfield L.A. et Balleine B.W. (2015), « Interaction of insular cortex and ventral striatum mediates the effect of incentive memory on choice between goal-directed actions. », *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, vol. 35, n°16, pp. 6464-6471.
- Parnaudeau S.S., Taylor K., Bolkan S.S., Ward R.D., Balsam P.D. et Kellendonk C. (2015), « Mediodorsal thalamus hypofunction impairs flexible goal-directed behavior », *Biological Psychiatry*, vol. 77, n°5, pp. 445-453.
- Parnaudeau S., O'Neill P.K., Bolkan S.S., Ward R.D., Abbas A.I., Roth B.L., Balsam P.D., Gordon J.A. et Kellendonk C. (2013), « Inhibition of Mediodorsal Thalamus Disrupts Thalamofrontal Connectivity and Cognition », *Neuron*, vol. 77, n°6, pp. 1151-1162.
- Paulus M.P. (2007), « Decision-making dysfunctions in psychiatry--altered homeostatic processing? », *Science (New York, N.Y.)*, vol. 318, n°5850, pp. 602-606.
- Pavlov I.P. (1927), « Conditioned reflexes », *London, Oxford University Press*.
- Paxinos G. et Watson C. (2013), *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates, 7th Edition*, 472 p.
- Peinado-Manzano M.A. et Pozo-Garcia R. (1991), « The role of different nuclei of the thalamus in processing episodic information. », *Behavioural brain research*, vol. 45, n°1, pp. 17-27.
- Pereira de Vasconcelos A. et Cassel J.-C. (2015), « The nonspecific thalamus: A place in a wedding bed for making memories last? », *Neuroscience and biobehavioral reviews*, vol. 54, pp. 175-196.

- Pergola G. et Suchan B. (2013), « Associative learning beyond the medial temporal lobe: many actors on the memory stage. », *Frontiers in behavioral neuroscience*, vol. 7, pp. 162.
- Phillips P.E.M., Stuber G.D., Heien M.L.A. V, Wightman R.M. et Carelli R.M. (2003), « Subsecond dopamine release promotes cocaine seeking. », *Nature*, vol. 422, n°6932, pp. 614-618.
- Pickens C.L., Saddoris M.P., Gallagher M. et Holland P.C. (2005), « Orbitofrontal lesions impair use of cue-outcome associations in a devaluation task », *Behav Neurosci*, vol. 119, n°1, pp. 317-322.
- Pickens C.L., Saddoris M.P., Setlow B., Gallagher M., Holland P.C. et Schoenbaum G. (2003a), « Different roles for orbitofrontal cortex and basolateral amygdala in a reinforcer devaluation task », *J Neurosci*, vol. 23, n°35, pp. 11078-11084.
- Pickens C.L. (2008), « A limited role for mediodorsal thalamus in devaluation tasks. », *Behavioral neuroscience*, vol. 122, n°3, pp. 659-676.
- Pickens C.L., Saddoris M.P., Setlow B., Gallagher M., Holland P.C. et Schoenbaum G. (2003b), « Different roles for orbitofrontal cortex and basolateral amygdala in a reinforcer devaluation task. », *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, vol. 23, n°35, pp. 11078-11084.
- Pickens C.L. et Holland P.C. (2004), « Conditioning and cognition », *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, vol. 28, n°7, pp. 651-661.
- Platt M.L. et Glimcher P.W. (1999), « Neural correlates of decision variables in parietal cortex. », *Nature*, vol. 400, n°6741, pp. 233-238.
- Preuss T.M. (1995), « Do Rats Have Prefrontal Cortex? The Rose-Woolsey-Akert Program Reconsidered », *Journal of Cognitive Neuroscience*, vol. 7, n°1, pp. 1-24.
- Price J.L. (2007), « Definition of the orbital cortex in relation to specific connections with limbic and visceral structures and other cortical regions », *Annals of the New York Academy of Sciences*, vol. 1121, pp. 54-71.
- Ragozzino M.E., Detrick S. et Kesner R.P. (1999), « Involvement of the prelimbic-infralimbic areas of the rodent prefrontal cortex in behavioral flexibility for place and response learning. », *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, vol. 19, n°11, pp. 4585-4594.
- Ragozzino M.E. (2002), « The Effects of Dopamine D1 Receptor Blockade in the Prelimbic-Infralimbic Areas on Behavioral Flexibility », *Learning & Memory*, vol. 9, n°1, pp. 18-28.
- Rangel A., Camerer C. et Montague P.R. (2008), « A framework for studying the neurobiology of value-based decision making. », *Nature reviews. Neuroscience*, vol. 9, n°7, pp. 545-556.
- Ray J.P. et Price J.L. (1992), « The organization of the thalamocortical connections of the mediodorsal thalamic nucleus in the rat, related to the ventral forebrain-prefrontal cortex topography. », *The Journal of comparative neurology*, vol. 323, n°2, pp. 167-197.
- Reed P. (2007), « Response rate and sensitivity to the molar feedback function relating response and reinforcement rate on VI+ schedules of reinforcement. », *Journal of experimental psychology. Animal behavior processes*, vol. 33, n°4, pp. 428-439.
- Reep R.L., Corwin J. V et King V. (1996), « Neuronal connections of orbital cortex in rats: topography of cortical and thalamic afferents. », *Experimental brain research. Experimentelle Hirnforschung. Experimentation cerebrale*, vol. 111, n°2, pp. 215-232.
- Reiner A. et Honig M.G. (2006), « Dextran Amines: Versatile Tools for Anterograde and Retrograde Studies of Nervous System Connectivity », *Neuroanatomical Tract-Tracing 3*, pp. 304-335.

- Rescorla R. a (1968), « Probability of shock in the presence and absence of CS in fear conditioning », *J Comp Physiol Psychol*, vol. 66, n°1, pp. 1-5.
- Rescorla R.A. et Wagner A.R. (1972), « A theory of Pavlovian conditioning: variations in the effectiveness of reinforcement and non reinforcement. », in A H Black & W F Prokasy (dir.), *Classical conditioning II: current research and theory*, New York: Appleton-Century-Crofts., pp. 64-99.
- Rescorla R.A. (1988), « Pavlovian conditioning: It's not what you think it is. », *American Psychologist*, vol. 43, n°3, pp. 151-160.
- Reuchlin M. (1981), *Psychologie*, PUF fondam.
- Reynolds G.S. (1975), *A primer of operant conditioning*.
- Ridderinkhof K.R., Wildenberg W.P.M. van den, Segalowitz S.J. et Carter C.S. (2004), « Neurocognitive mechanisms of cognitive control: the role of prefrontal cortex in action selection, response inhibition, performance monitoring, and reward-based learning. », *Brain and cognition*, vol. 56, n°2, pp. 129-140.
- Rivalan M., Ahmed S.H. et Dellsu-Hagedorn F. (2009), « Risk-prone individuals prefer the wrong options on a rat version of the Iowa Gambling Task. », *Biological psychiatry*, vol. 66, n°8, pp. 743-749.
- Rivalan M., Coutureau E., Fitoussi A. et Dellsu-Hagedorn F. (2011), « Inter-individual decision-making differences in the effects of cingulate, orbitofrontal, and prelimbic cortex lesions in a rat gambling task. », *Frontiers in behavioral neuroscience*, vol. 5, pp. 22.
- Rose M. et Woolsey C. (1948), « Structure and relations of limbic cortex and anterior thalamic nuclei in rabbit and cat. », *J Comp Neurol*, n°89, pp. 279-347.
- Rubio-Garrido P., Pérez-de-Manzo F. et Clascá F. (2007), « Calcium-binding proteins as markers of layer-I projecting vs. deep layer-projecting thalamocortical neurons: A double-labeling analysis in the rat », *Neuroscience*, vol. 149, n°1, pp. 242-250.
- Saint Blanquat P. De, Hok V., Save E., Poucet B. et Chaillan F.A. (2013), « Differential role of the dorsal hippocampus, ventro-intermediate hippocampus, and medial prefrontal cortex in updating the value of a spatial goal. », *Hippocampus*, vol. 23, n°5, pp. 342-351.
- Salamone J.D., Cousins M.S. et Bucher S. (1994), « Anhedonia or anergia? Effects of haloperidol and nucleus accumbens dopamine depletion on instrumental response selection in a T-maze cost/benefit procedure. », *Behavioural brain research*, vol. 65, n°2, pp. 221-229.
- Schilman E. a., Uylings H.B.M., Graaf Y.G., Joel D. et Groenewegen H.J. (2008), « The orbital cortex in rats topographically projects to central parts of the caudate-putamen complex », *Neuroscience Letters*, vol. 432, n°1, pp. 40-45.
- Schmued L., Kyriakidis K. et Heimer L. (1990), « In vivo anterograde and retrograde axonal transport of the fluorescent rhodamine-dextran-amine, Fluoro-Ruby, within the CNS », *Brain Research*, vol. 526, n°1, pp. 127-134.
- Schoenbaum G., Chiba a a et Gallagher M. (1998), « Orbitofrontal cortex and basolateral amygdala encode expected outcomes during learning. », *Nature neuroscience*, vol. 1, n°2, pp. 155-159.
- Schoenbaum G., Nugent S.L., Saddoris M.P. et Setlow B. (2002), « Orbitofrontal lesions in rats impair reversal but not acquisition of go, no-go odor discriminations. », *Neuroreport*, vol. 13, n°6, pp. 885-890.
- Schoenbaum G., Roesch M.R., Stalnaker T.A. et Takahashi Y.K. (2010), « A new perspective on the role of the orbitofrontal cortex in adaptive behaviour », *Nature Reviews Neuroscience*,

vol. 10, n°12, pp. 885-892.

- Schoenbaum G., Setlow B. et Ramus S.J. (2003), « A systems approach to orbitofrontal cortex function: Recordings in rat orbitofrontal cortex reveal interactions with different learning systems », *Behavioural Brain Research*, vol. 146, n°1-2, pp. 19-29.
- Schultz W. (1998), « Predictive reward signal of dopamine neurons. », *Journal of neurophysiology*, vol. 80, n°1, pp. 1-27.
- Schultz W., Dayan P. et Montague P.R. (1997), « A neural substrate of prediction and reward. », *Science (New York, N.Y.)*, vol. 275, n°5306, pp. 1593-1599.
- Shafiei N., Gray M., Viau V. et Floresco S.B. (2012), « Acute stress induces selective alterations in cost/benefit decision-making. », *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, vol. 37, n°10, pp. 2194-2209.
- Shan Q., Christie M.J. et Balleine B.W. (2015), « Plasticity in striatopallidal projection neurons mediates the acquisition of habitual actions. », *The European journal of neuroscience*, vol. 42, n°4, pp. 2097-2104.
- Sherman S.M. et Guillery R.W. (1996), « Functional organization of thalamocortical relays. », *Journal of neurophysiology*, vol. 76, n°3, pp. 1367-1395.
- Sherman S.M. (2012), « Thalamocortical interactions », *Current Opinion in Neurobiology*, vol. 22, n°4, pp. 575-579.
- Shiflett M.W. et Balleine B.W. (2010), « At the limbic-motor interface: disconnection of basolateral amygdala from nucleus accumbens core and shell reveals dissociable components of incentive motivation. », *The European journal of neuroscience*, vol. 32, n°10, pp. 1735-1743.
- Shiflett M.W. et Balleine B.W. (2011a), « Molecular substrates of action control in cortico-striatal circuits », *Progress in Neurobiology*, vol. 95, n°1, pp. 1-13.
- Shiflett M.W. et Balleine B.W. (2011b), « Contributions of ERK signaling in the striatum to instrumental learning and performance », *Behavioural Brain Research*, vol. 218, n°1, pp. 240-247.
- Siegel M., Donner T.H., Oostenveld R., Fries P. et Engel A.K. (2008), « Neuronal synchronization along the dorsal visual pathway reflects the focus of spatial attention. », *Neuron*, vol. 60, n°4, pp. 709-719.
- Simon N.W., Wood J. et Moghaddam B. (2015), « Action-outcome relationships are represented differently by medial prefrontal and orbitofrontal cortex neurons during action execution. », *Journal of neurophysiology*, pp. jn.00884.2015.
- Singh T., McDannald M.A., Haney R.Z., Cerri D.H. et Schoenbaum G. (2010), « Nucleus Accumbens Core and Shell are Necessary for Reinforcer Devaluation Effects on Pavlovian Conditioned Responding. », *Frontiers in integrative neuroscience*, vol. 4, pp. 126.
- Skinner B. (1938), *The behavior of organisms: an experimental analysis.*, New York, Appleton-Century.
- Smith K.S., Virkud A., Deisseroth K. et Graybiel A.M. (2012), « Reversible online control of habitual behavior by optogenetic perturbation of medial prefrontal cortex », *Proceedings of the National Academy of Sciences*.
- Smith K. et Graybiel A. (2013), « A dual operator view of habitual behavior reflecting cortical and striatal dynamics », *Neuron*, vol. 79, n°2, pp. 361-374.
- Stalnaker T.A., Cooch N.K., McDannald M.A., Liu T.-L., Wied H. et Schoenbaum G. (2014),

- « Orbitofrontal neurons infer the value and identity of predicted outcomes. », *Nature communications*, vol. 5, pp. 3926.
- Tanaka S.C., Balleine B.W. et O'Doherty J.P. (2008), « Calculating consequences: Brain systems that encode the causal effects of actions. », *The Journal of Neuroscience*, vol. 28, n°26, pp. 6750-6755.
- Tanaka S.C., Doya K., Okada G., Ueda K., Okamoto Y. et Yamawaki S. (2004), « Prediction of immediate and future rewards differentially recruits cortico-basal ganglia loops. », *Nature neuroscience*, vol. 7, n°8, pp. 887-893.
- Tang J.S., Qu C.L. et Huo F.Q. (2009), « The thalamic nucleus submedialis and ventrolateral orbital cortex are involved in nociceptive modulation: A novel pain modulation pathway », *Progress in Neurobiology*, vol. 89, n°4, pp. 383-389.
- Thorndike E. (1911), *Animal Intelligence: experimental studies.*, New York, Macmillan.
- Tigner J.C. (1974), « The effects of dorsomedial thalamic lesions on learning, reversal, and alternation behavior in the rat. », *Physiology & behavior*, vol. 12, n°1, pp. 13-17.
- Timbie C. et Barbas H. (2015), « Pathways for Emotions: Specializations in the Amygdalar, Mediodorsal Thalamic, and Posterior Orbitofrontal Network », *Journal of Neuroscience*, vol. 35, n°34, pp. 11976-11987.
- Tran-Tu-Yen D.A.S., Marchand A.R., Pape J.R., Scala G. Di et Coutureau E. (2009), « Transient role of the rat prelimbic cortex in goal-directed behaviour », *European Journal of Neuroscience*, vol. 30, n°3, pp. 464-471.
- Trapold M.A. et Overmier J.B. (1972), « The second learning process in instrumental conditioning », in *Classical conditioning II: Current theory and research*, pp. 237-452.
- Tricomi E., Balleine B.W. et O'Doherty J.P. (2009), « A specific role for posterior dorsolateral striatum in human habit learning », *European Journal of Neuroscience*, vol. 29, n°11, pp. 2225-2232.
- Urcuioli P.J. (2005), « Behavioral and associative effects of differential outcomes in discrimination learning. », *Learning & behavior : a Psychonomic Society publication*, vol. 33, n°1, pp. 1-21.
- Uylings H.B. et Eden C.G. van (1990), « Qualitative and quantitative comparison of the prefrontal cortex in rat and in primates, including humans. », *Progress in brain research*, vol. 85, pp. 31-62.
- Uylings H.B.M., Groenewegen H.J. et Kolb B. (2003), « Do rats have a prefrontal cortex? », *Behavioural Brain Research*, vol. 146, n°1-2, pp. 3-17.
- Valentin V. V., Dickinson A. et O'Doherty J.P. (2007), « Determining the neural substrates of goal-directed learning in the human brain. », *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, vol. 27, n°15, pp. 4019-4026.
- Varela C. (2014), « Thalamic neuromodulation and its implications for executive networks. », *Frontiers in neural circuits*, vol. 8, pp. 69.
- Vercelli a., Repici M., Garbossa D. et Grimaldi a. (2000), « Recent techniques for tracing pathways in the central nervous system of developing and adult mammals », *Brain Research Bulletin*, vol. 51, n°1, pp. 11-28.
- Vertes R.P. (2004), « Differential Projections of the Infralimbic and Prelimbic Cortex in the Rat », *Synapse*, vol. 51, n°1, pp. 32-58.
- Victor M., Adams R.D. et Collins G.H. (1971), « The Wernicke-Korsakoff syndrome. A clinical and

- pathological study of 245 patients, 82 with post-mortem examinations. », *Contemporary neurology series*, vol. 7, pp. 1-206.
- Vogt B.A., Rosene D.L. et Peters A. (1981), « Synaptic termination of thalamic and callosal afferents in cingulate cortex of the rat. », *The Journal of comparative neurology*, vol. 201, n°2, pp. 265-283.
- Vogt B.A. (2005), « Pain and emotion interactions in subregions of the cingulate gyrus. », *Nature reviews. Neuroscience*, vol. 6, n°7, pp. 533-544.
- Vogt B.A., Vogt L., Farber N.B. et Bush G. (2005), « Architecture and neurocytology of monkey cingulate gyrus. », *The Journal of comparative neurology*, vol. 485, n°3, pp. 218-239.
- Vogt B. a., Hof P.R., Zilles K., Vogt L.J., Herold C. et Palomero-Gallagher N. (2013), « Cingulate area 32 homologies in mouse, rat, macaque and human: Cytoarchitecture and receptor architecture », *Journal of Comparative Neurology*, vol. 521, n°18, pp. 4189-4204.
- Vogt B.A. et Paxinos G. (2014), « Cytoarchitecture of mouse and rat cingulate cortex with human homologies », *Brain Structure and Function*, vol. 219, n°1, pp. 185-192.
- Vogt B. a. et Vogt L. (2004), « Cingulate Cortex and Disease Models », *The rat nervous system (3ed)*, pp. 705-727.
- Vogt et Gabriel (2013), *Neurobiology of Cingulate Cortex and Limbic Thalamus: A Comprehensive Handbook*, Springer Science & Business Media, 639 p.
- Vogt L.J., Sim-Selley L.J., Childers S.R., Wiley R.G. et Vogt B.A. (2001), « Colocalization of {micro}-Opioid Receptors and Activated G-Proteins in Rat Cingulate Cortex », *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, vol. 299, n°3, pp. 840-848.
- Wassum K.M., Ostlund S.B., Maidment N.T. et Balleine B.W. (2009), « Distinct opioid circuits determine the palatability and the desirability of rewarding events », *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 106, n°30, pp. 12512-12517.
- Wassum K.M., Cely I.C., Balleine B.W. et Maidment N.T. (2011), « Micro-opioid receptor activation in the basolateral amygdala mediates the learning of increases but not decreases in the incentive value of a food reward. », *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, vol. 31, n°5, pp. 1591-1599.
- Wassum K.M. et Izquierdo A. (2015), « The basolateral amygdala in reward learning and addiction. », *Neuroscience and biobehavioral reviews*.
- Wassum K.M., Tolosa V.M., Tseng T.C., Balleine B.W., Monbouquette H.G. et Maidment N.T. (2012), « Transient extracellular glutamate events in the basolateral amygdala track reward-seeking actions. », *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, vol. 32, n°8, pp. 2734-2746.
- Werd H.J.J.M. Van De et Uylings H.B.M. (2008), « The rat orbital and agranular insular prefrontal cortical areas: a cytoarchitectonic and chemoarchitectonic study. », *Brain structure & function*, vol. 212, n°5, pp. 387-401.
- Wess J., Nakajima K. et Jain S. (2013), « Novel designer receptors to probe GPCR signaling and physiology », *Trends in Pharmacological Sciences*, vol. 34, n°7, pp. 385-392.
- Winocur G. (1985), « The hippocampus and thalamus: their roles in short- and long-term memory and the effects of interference. », *Behavioural brain research*, vol. 16, n°2-3, pp. 135-152.
- Winocur G. (1990), « Anterograde and retrograde amnesia in rats with dorsal hippocampal or dorsomedial thalamic lesions. », *Behavioural brain research*, vol. 38, n°2, pp. 145-154.
- Wit S. de et Dickinson A. (2009), « Associative theories of goal-directed behaviour: a case for animal-

- human translational models. », *Psychological research*, vol. 73, n°4, pp. 463-476.
- Wolff M., Alcaraz F., Marchand A.R. et Coutureau E. (2015), « Functional heterogeneity of the limbic thalamus: From hippocampal to cortical functions », *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, vol. 54, pp. 120-130.
- Wolff M., Faugère A., Desfosses É., Coutureau É. et Marchand A.R. (2015), « Mediodorsal but not anterior thalamic nuclei lesions impair acquisition of a conditional discrimination task. », *Neurobiology of Learning and Memory*, vol. 125, pp. 80-84.
- Wolff M., Gibb S.J., Cassel J.C. et Dalrymple-Alford J.C. (2008), « Anterior but not intralaminar thalamic nuclei support allocentric spatial memory », *Neurobiology of Learning and Memory*, vol. 90, n°1, pp. 71-80.
- Wouterlood F.G., Bloem B., Mansvelder H.D., Luchicchi A. et Deisseroth K. (2014), « A fourth generation of neuroanatomical tracing techniques: exploiting the offspring of genetic engineering. », *Journal of neuroscience methods*, vol. 235, pp. 331-348.
- Yin H.H. et Knowlton B.J. (2006), « The role of the basal ganglia in habit formation. », *Nature reviews. Neuroscience*, vol. 7, n°6, pp. 464-476.
- Yin H.H., Mulcare S.P., Hilário M.R.F., Clouse E., Holloway T., Davis M.I., Hansson A.C., Lovinger D.M. et Costa R.M. (2009), « Dynamic reorganization of striatal circuits during the acquisition and consolidation of a skill. », *Nature neuroscience*, vol. 12, n°3, pp. 333-341.
- Yin H.H., Knowlton B.J. et Balleine B.W. (2004), « Lesions of dorsolateral striatum preserve outcome expectancy but disrupt habit formation in instrumental learning », *European Journal of Neuroscience*, vol. 19, n°1, pp. 181-189.
- Yin H.H., Knowlton B.J. et Balleine B.W. (2005), « Blockade of NMDA receptors in the dorsomedial striatum prevents action-outcome learning in instrumental conditioning », *European Journal of Neuroscience*, vol. 22, n°2, pp. 505-512.
- Yin H.H., Knowlton B.J. et Balleine B.W. (2006), « Inactivation of dorsolateral striatum enhances sensitivity to changes in the action-outcome contingency in instrumental conditioning », *Behavioural Brain Research*, vol. 166, n°2, pp. 189-196.
- Yin H.H., Ostlund S.B., Knowlton B.J. et Balleine B.W. (2005), « The role of the dorsomedial striatum in instrumental conditioning », *European Journal of Neuroscience*, vol. 22, n°2, pp. 513-523.
- Zeeb F.D., Robbins T.W. et Winstanley C.A. (2009), « Serotonergic and dopaminergic modulation of gambling behavior as assessed using a novel rat gambling task. », *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, vol. 34, n°10, pp. 2329-2343.