



**HAL**  
open science

**Le trouble de stress post traumatique, une pathologie de  
la réactivation mnésique ? Recherche d'un découplage  
monoaminergique et de nouvelles tentatives  
thérapeutiques chez le rat**

Claire Le Dorze

► **To cite this version:**

Claire Le Dorze. Le trouble de stress post traumatique, une pathologie de la réactivation mnésique ? Recherche d'un découplage monoaminergique et de nouvelles tentatives thérapeutiques chez le rat. Neurosciences [q-bio.NC]. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2016. Français. NNT : 2016PA066645 . tel-01663498

**HAL Id: tel-01663498**

**<https://theses.hal.science/tel-01663498>**

Submitted on 14 Dec 2017

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

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

# Université Pierre et Marie Curie

Ecole doctorale Cerveau, Cognition, Comportement n°158 (ED3C)

*Institut des Neurosciences Paris Saclay CNRS UMR 9197 - Département Cognition et*

*Comportement - Equipe Neurobiologie de la Prise de Décision*

## **Le trouble de stress post traumatique, une pathologie de la réactivation mnésique ?**

### **Recherche d'un découplage monoaminergique et de nouvelles tentatives thérapeutiques chez le rat**

Par Claire Le Dorze

Thèse de doctorat de Neurosciences

Dirigée par Pascale Gisquet-Verrier

Présentée et soutenue publiquement le 12 Décembre 2016

Devant un jury composé de :

Pr. Charles-Siegfried Peretti,	Président du jury
Dr. David Belin,	Rapporteur
Dr. Aline Desmedt,	Rapporteur
Pr. Didier Bazalgette,	Examineur
Dr. Stéphanie Daumas,	Examineur
Dr. Pascale Gisquet-Verrier,	Directrice de thèse



*En amour, la mémoire mesure l'intensité plus que le temps.*

*Louis Pauwels ; Un jour, je me souviendrai de tout (posthume, 2005)*

*L'attention est le burin de la mémoire.*

*François Gaston de Lévis ; Maximes et pensées (1812)*



## Remerciements

Je remercie les membres du jury pour avoir accepté d'évaluer ce travail de recherche. Je remercie David Belin et Aline Desmedt de m'avoir fait l'honneur d'être rapporteur de ce travail. Je remercie également Stéphanie Daumas, qui a eu l'occasion de suivre mon travail depuis le master 2, et Charles-Siegfried Peretti pour avoir accepté de se joindre au jury. Je tiens également à remercier Didier Balzagette, tuteur au sein de la Direction Générale de l'Armement qui a financée ce travail.

Je ne peux suffisamment exprimer ma reconnaissance envers ma directrice de Thèse, Pascale Gisquet-Verrier, qui m'a encadrée tout au long de cette thèse, m'a surtout soutenue dans mes choix et toujours conseillée au mieux. Nous avons partagé beaucoup de choses pendant ces trois années de thèse, tant au niveau scientifique, que personnel. Je la remercie pour tous ses conseils et sa formation, que ce soit sur les techniques d'expérimentation animale ou sur la gestion de projet.

Un très grand merci à l'IRBA pour sa collaboration, et plus particulièrement à Frédéric Chauveau, sans qui nous n'aurions pu mettre en place la microdialyse. Merci pour m'avoir formée à cette technique, et pour ses conseils qui ont fait avancer les expériences. Merci également à Jean-Pol Tassin de nous avoir permis d'aller au bout de nos expériences en m'accueillant au sein de son laboratoire. Je le remercie pour ses conseils et son aide dans la compréhension des différents résultats obtenus.

Je remercie Serge Laroche, Philippe Vernier, et Jean-Marc Edeline, pour m'avoir accueillie au sein du laboratoire NeuroPSI, et me permettre de réaliser cette thèse.

Merci à Daniel Toledano pour m'avoir formée sur l'expérimentation animale, pour toutes ses discussions sur les analyses et le sujet en lui-même. Sa thèse a été pour moi un ouvrage de référence pour la continuité du travail.

Je remercie également toutes les personnes avec qui j'ai collaboré lors de cette thèse : Vincent Bombail, Nicolas Meunier, Antonella Borreca, Martine Amassari-Teule, Frédéric Canini et Albine Morand.

Je souhaite également remercier tous mes stagiaires, qui m'ont aidée à faire avancer les expériences et que j'ai eu plaisir à encadrer : Nathalie L., Angelina M., Aicha A., Kouloud A., Salma A., Pauline D., Eléonore H., Marêva B., Hugo L. et Domenico M.

Toutes ces expériences n'auraient pas été possibles sans l'aide de l'équipe animalière, avec principalement Aurélie Bonilla, Céline Dubois et Fabien Lhéricel.

Merci aussi à mes collègues doctorants/post doctorants dont certains ont été partenaires d'organisation d'événements (BBQ et Student Club) : Nathalie M., Charlotte L., Lucille T., Florian O., Elsa P., Aurore C., Victor A., Mehdi B., Charlotte C.

Je tiens également à remercier tous mes amis qui m'ont soutenue pendant ces trois ans, ainsi que toute ma famille, mes parents, mes sœurs, ma cousine et ma grand-mère. Un grand merci également à ma belle-famille de m'avoir soutenue pendant cette période.

Enfin, je souhaite remercier mon cher mari, Thierry, pour m'avoir poussé à aller toujours plus loin, à me surpasser et pour m'avoir soutenue pendant toute cette thèse.

## Publications et communications

### Publications écrites

- 1) **Claire Le Dorze** and Pascale Gisquet-Verrier (2016). Sensitivity to trauma-associated cues is restricted to vulnerable traumatized rats and is reinstated after extinction by yohimbine. *Behavioural Brain Research*. 313, 120-34.
- 2) **Claire Le Dorze**, Pascale Gisquet-Verrier (2016). Effect of multiple re-exposures to trauma-associated cues on traumatized resilient and vulnerable rats. *Brain Research*. 0006-8993, 71-80.
- 3) **Claire Le Dorze**, Jean-Pol Tassin, Frédéric Chauveau et Pascale Gisquet-Verrier (en préparation). Behavioral and Noradrenergic sensitizations to amphetamine in rats exposed to an Animal Model of Post-Traumatic Stress Disorder: a support for common bases with dependence to drugs of abuse.
- 4) **Claire Le Dorze**, Pascale Gisquet-Verrier (en préparation). Bidirectional effects of amphetamine on PTSD-like symptoms in rats: Evidence for emotional remodeling of memory.
- 5) **Claire Le Dorze**, Pascale Gisquet-Verrier (en préparation). Memory remodeling with Oxytocin: A new treatment for PTSD-like symptoms.
- 6) Pascale Gisquet-Verrier, Daniel Toledano et **Claire Le Dorze** (2016). Bases physiologiques communes pour les troubles de stress post traumatiques et dépendance aux drogues d'abus. *Thérapie*. S0040-5957(16)31176-3.
- 7) Frédéric Chauveau, **Claire Le Dorze**, et Pascale Gisquet-Verrier (en préparation). Effect of sleep deprivation on PTSD-like symptoms on SPS rats. Collaboration avec l'IRBA.
- 8) Antonella Borreca, **Claire Le Dorze**, Annabella Pignataro, Pascale Gisquet-Verrier, Martine Amassari-Teule (en préparation). Spine density on SPS rats treated or not with a remodeling treatment using oxytocin. Collaboration avec le CNR (Italie, Rome).
- 9) Vincent Bombail, **Claire Le Dorze**, Pascale Gisquet-Verrier, Nicolas Meunier (en préparation). Olfactory bulb responses to a trauma-associated odor in an animal model of PTSD: an electrophysiological study. Collaboration avec l'INRA.



## Communications orales

- 1) **Claire Le Dorze** (Janvier 2014). Etat de stress post traumatique, une pathologie de la réactivation mnésique ? *Journée d'accueil des doctorants DGA. Ecole militaire, Paris (75), France.*
- 2) **Claire Le Dorze**, Daniel Toledano, Pascale Gisquet-Verrier (Juin 2014). Importance des indices de rappel dans le développement et le maintien de la pathologie d'Etat de stress post traumatique chez le rat. *Réseau ABC des Pshychotrauma. Paris (75).*
- 3) **Claire Le Dorze**, Pascale Gisquet-Verrier (Juin 2016). Bases physiologiques communes entre TSPT et addiction. *Réseau ABC des Pshychotrauma. Paris (75).*
- 4) Pascale Gisquet-Verrier, **Claire Le Dorze**, Charles Siegfried Peretti (Juillet 2016). Emotional remodeling as a new therapeutic approach for posttraumatic stress disorder and for dependence for drug of abuse. *Colloque ICOM6 – International conference on memory. Budapest, Hongrie.*
- 5) **Claire Le Dorze**, Pascale Gisquet-Verrier (Novembre 2016). Emotional remodeling in rats exposed to an animal model of PTSD. *UNIL. Lausanne, Suisse.*
- 6) **Claire Le Dorze** (Décembre 2016). Le trouble de stress post traumatique, une pathologie de la réactivation mnésique ? recherche d'un découplage monoaminergique et de nouvelles tentatives thérapeutiques chez le rat. *INRA, Jouy-en-Josas (91).*

## Communications affichées

- 1) **Claire Le Dorze**, Daniel Toledano, Pascale Gisquet-Verrier (Décembre 2013). Etat de stress post traumatique, une pathologie de la réactivation mnésique ? *Colloque de clôture de l'IFR 144 : NEUROSUD-PARIS. Gif-Sur-Yvette (91)*
- 2) **Claire Le Dorze**, Pascale Gisquet-Verrier (Mars 2014). Post-traumatic stress disorder, a pathology of memory reactivation. Searching monoaminergic uncoupling by microdialysis and new therapeutic approaches on rats. *Journée d'accueil des doctorants Ecole Doctorale n°158 (ED3C). Jussieu, Paris (75), France.*
- 3) **Claire Le Dorze**, Pascale Gisquet-Verrier (Mai 2014). Etat de stress post traumatique, une pathologie de la réactivation mnésique ? *Colloque NeuroMem GDR2905 Neurosciences de la mémoire. Grasse (06), France.*

- 4) **Claire Le Dorze**, Pascale Gisquet-Verrier (Mars 2015). Memory remodeling: a new therapeutic approach for post-traumatic stress disorder based on high reactivity to trauma-related cues. *Journée annuelle des doctorants Ecole Doctorale n°158 (ED3C). Jussieu, Paris (75), France*
- 5) **Claire Le Dorze**, Daniel Toledano, Pascale Gisquet-Verrier (Mai 2015). A common physiological basis for Post-traumatic stress disorder and dependence for drug of abuse: an uncoupling of the monoaminergic systems. *EBPS2014: Stress, PTSD and Psychiatric disorders. Rehovot, Israël.*
- 6) Pascale Gisquet-Verrier, **Claire Le Dorze**, Daniel Toledano (Mai 2015). Relationships between Post Traumatic Stress Disorder and trauma-associated cues. *EBPS2014: Stress, PTSD and Psychiatric disorders. Rehovot, Israël.*
- 7) **Claire Le Dorze**, Pascale Gisquet-Verrier (Mai 2015). New therapeutic approaches for post-traumatic stress disorder based on high reactivity to trauma-related cues. *12<sup>ème</sup> colloque de la Société des Neurosciences : Montpellier (45), France.*
- 8) **Claire Le Dorze**, Pascale Gisquet-Verrier (Décembre 2015). Remodeling traumatic memories as PTSD treatment, a new therapeutic approach base on high reactivity to trauma-related cues. *EPFL Brain Mind Symposia : Consolidation, reconsolidation and extinction : Lausanne, Suisse.*
- 9) **Claire Le Dorze**, Jean-Pol Tassin et Pascale Gisquet-Verrier (Juillet 2016). Vulnerable traumatized rats demonstrate increases in medial prefrontal noradrenergic release: A support to the hypothesis of common physiological bases for PTSD and dependence to drugs of abuse. *FENS 10th Forum of Neuroscience. Copenhagen, Danemark*

**Etudiants encadrés :** Nathalie Lee (L2, Université Paris Sud), Angelina Mancic (M1, Université Pierre et Marie Curie), Aicha Aleian (M1, Université Paris Sud), Kouloud Abichou, Salma Achawi (L2, Université Paris-Sud, Paris-Saclay), Pauline Demory (L1, Université Paris-Sud, Paris-Saclay), Eléonore Hardy (L3 Magistère, Université Paris-Sud, Paris-Saclay), Marêva Bleuzé (M1, Université Paris-Sud, Paris-Saclay), Hugo Lesoeur (M1, Université de Versailles, Paris-Saclay), Domenico Montanaro (M2 Erasmus - Italie).

## Liste des abréviations

5-HT	Sérotonine	ip	intra-péritonéale
Ach	Acétylcholine	ISRS	Inhibiteur spécifiques de la recapture de sérotonine
ACTH	Adrenocorticotropin hormone (adrénocorticotropine)	ISRSNa	Inhibiteur spécifiques de la recapture de sérotonine et de la noradrénaline
ATC	Antidépresseur tricyclique	KO	Knock-Out
ATV	Aire tegmentale ventrale	LC	Locus caeruleus
BZD	Benzodiazépine	LR	Low Responder
CCA	cortex cingulaire antérieur	mCPP	Méta-Chlorophenylpiperazine
CPFm	Cortex préfrontal médian	MDMA	3,4-méthylène-dioxy-methamphétamine (ecstasy)
CPP	Conditionnement de préférence de place	MR	Récepteurs aux minéralocorticoïdes
CRH	Corticotropin-releasing hormone (corticolibérine)	NA	Noradrénaline
DA	Dopamine	NAC	Noyau Accumbens
DAT	Dopamine transporteur	NERT	Transporteur de la noradrénaline
DSM	Diagnostic and statistical manual of mental disorder	NMDA	N-méthyl D-aspartate
EMDR	Eye movement desensitization and reprocessing	NPY	Neuropeptide Y
EPM	Elevated plus maze (labyrinthe en croix surélevé)	OMS	Organisation mondiale de la santé
ESA	Etat de stress aigu	OXT	ocytocine
GABA	Gamma-aminobutyric acid	PTSD	Post-traumatic stress disorder
GR	récepteurs aux glucocorticoïdes	RD	Raphé dorsal
HPA	axe corticotrope (hypothalamo-hypophyso-surrénalien)	SERT	Transporteur de la sérotonine
HR	High Responder	SNC	Système nerveux central
IMAO	Inhibiteur des monoamines oxydases	SPS	Single Prolonged Stress
icv	intra-cérébro-ventriculaire	TCC	Thérapies cognitivo-comportementales
		TEP	Thérapie d'exposition prolongée
		TSPT	Trouble de stress post traumatique

# Table des matières

Remerciements.....	3
Publications et communications.....	7
Liste des abréviations .....	10

A- Introduction.....	17
----------------------	----

## I – Réactivation mnésique : fonctions et dysfonctions ..... 21

1. Historique .....	21
2. Caractéristiques et fonctions de la réactivation mnésique .....	24
2.1. Nature des indices permettant la réactivation .....	24
2.2. Effets comportementaux pendant la réactivation.....	24
2.3. Réactivation mnésique et amélioration de la performance .....	25
2.4. Réactivation mnésique et intégration de nouvelles informations.....	26
3. Bases neurobiologiques de la réactivation mnésique .....	27
3.1. Bases neurobiologiques de la réactivation mnésique .....	27
3.2. Bases cellulaires et moléculaires de la réactivation mnésique.....	30
4. Dysfonctions de la réactivation mnésique .....	31
4.1. Dépendance aux drogues d’abus .....	31
4.2. Troubles de stress post-traumatique .....	32

## II – Une pathologie de la réactivation mnésique : le trouble de stress post traumatique (TSPT)..... 35

1. Caractéristiques du TSPT.....	35
1.1. Définition et symptômes .....	35
1.2. Développement .....	38
1.3. Epidémiologie .....	39
1.4. Facteurs de risque .....	41
1.4.1. Facteurs pré-traumatiques.....	41
1.4.2. Facteurs péri-traumatiques .....	42
1.4.3. Facteurs post-traumatiques .....	43
1.5. Facteurs de protection/résilience .....	43
1.5.1. Facteurs pré-traumatiques.....	44
1.5.2. Facteurs péri-traumatiques .....	44
1.5.3. Facteurs post-traumatiques .....	44
2. Mémoire et TSPT .....	45
2.1. Hypermnésie dans le TSPT .....	45
2.2. Amnésie dans le TSPT.....	47
2.3. Paradoxe mnésique .....	48
3. Neurobiologie du TSPT.....	49

3.1.	Modèles animaux .....	49
3.1.1.	L'exposition aux chocs électriques .....	50
3.1.2.	Chocs avec réexpositions aux indices .....	50
3.1.3.	L'exposition au prédateur / odeur de prédateur .....	51
3.1.4.	Traumatisme par immersion ou « Under Water Trauma » .....	52
3.1.5.	Stress de défaite sociale .....	53
3.1.6.	Le Single Prolonged Stress (SPS) .....	53
3.1.7.	Symptômes obtenus dans les modèles animaux .....	54
3.2.	Stress normal .....	55
3.3.	Stress pathologique (TSPT) .....	57
3.3.1.	Modifications structurales et fonctionnelles .....	57
3.3.2.	Modifications de la neurotransmission .....	60
3.3.3.	Modifications du fonctionnement de l'axe corticotrope .....	62
4.	Traitements .....	65
4.1.	Débriefings précoces .....	66
4.2.	Pharmacothérapies .....	66
4.2.1.	Inhibiteurs spécifiques de la recapture de la sérotonine (ou ISRS) .....	66
4.2.2.	Inhibiteurs spécifiques de la recapture de la sérotonine et de la noradrénaline .....	67
4.2.3.	Antidépresseurs tricycliques (ou ATC) .....	68
4.2.4.	Inhibiteurs des monoamines oxydases (IMAO) .....	68
4.2.5.	Autres composés .....	68
4.3.	Psychothérapies .....	69
4.3.1.	Thérapies d'exposition prolongée TEP .....	69
4.3.2.	Thérapies cognitivo-comportementales TCC .....	70
4.3.3.	Eye Movement Desensitization and Reprocessing EMDR .....	71
4.3.4.	Autres techniques .....	71
4.4.	Traitements perturbant la consolidation-reconsolidation .....	72

## **III – Bases physiologiques communes entre TPST et dépendance aux drogues d'abus..... 75**

1.	Caractéristiques Addiction/Dépendance aux drogues.....	75
1.1.	Généralités .....	75
1.2.	Etapes et théories de la dépendance .....	77
1.3.	Modèles animaux .....	79
1.3.1.	Conditionnement de préférence de place (CPP) .....	79
1.3.2.	Modèle de l'auto-administration .....	79
1.3.3.	Sensibilisation comportementale .....	80
2.	Liens entre TSPT et addiction .....	82
2.1.	Points communs .....	82
2.2.	Causes possibles de la comorbidité .....	84
2.3.	Réseau structural mis en jeu par les indices de rappel .....	85
2.3.1.	Dépendance aux drogues d'abus .....	85
2.3.2.	TSPT .....	86
2.3.3.	Réactivation mnésique .....	86

<b>3. Découplage des systèmes monoaminergiques dans l'addiction .....</b>	<b>88</b>
3.1. Implication des systèmes noradrénergique et sérotoninergique dans la sensibilisation comportementale.....	88
3.2. Hypothèse de découplage et validité.....	90
3.2.1. Autocontrôles des systèmes noradrénergique et sérotoninergique .....	90
3.2.2. Découplage monoaminergique .....	93
<b>4. Intérêts de l'hypothèse de découplage pour le TSPT.....</b>	<b>94</b>
4.1. Découplage et hyper réactivité aux indices de rappel.....	94
4.2. Interaction entre indices de rappel et monoamines.....	94
4.2.1. Modulation de la sensibilisation comportementale par l'exposition à des indices de rappel.....	94
4.2.2. Modulation de la libération de NA et modulation des reviviscences .....	95
4.2.3. Exposition aux indices de rappel et libération de NA.....	95
4.2.4. Exposition aux indices et sérotonine.....	96
4.3. Données sur la possibilité d'un découplage dans le TSPT.....	96
4.4. Interaction drogue/stress et sensibilisation croisée .....	98
<b>IV – Objectifs de la Thèse.....</b>	<b>99</b>
<b>1. Hypothèses .....</b>	<b>99</b>
<b>2. Validité du SPS en tant que modèle animal du TSPT .....</b>	<b>100</b>
2.1. Validité étiologique (Etiological validity).....	100
2.2. Validité de représentation (Face validity).....	100
2.3. Validité de construction (Construct validity) .....	102
2.4. Validité prédictive (Predictive validity) .....	103
<b>3. Résumé des données déjà obtenues dans l'équipe .....</b>	<b>103</b>
3.1. Sensibilisation comportementale et réactivité à la nouveauté .....	103
3.2. Mise en évidence de différences individuelles .....	104
3.3. Remodelage émotionnel .....	105
<b>4. Objectifs &amp; Stratégies .....</b>	<b>105</b>
4.1. Axe 1 : Rôle des indices de rappel dans le TSPT.....	106
4.2. Axe 2 : Recherche d'un découplage monoaminergique .....	106
4.3. Axe 3 : Recherche de nouveaux traitements thérapeutiques pour le TSPT .....	107
<b>B - RESULTATS .....</b>	<b>109</b>
<b>I – Traumatisme : conséquences, vulnérabilité et rôle des indices de rappel .....</b>	<b>111</b>
<b>1. Vulnérabilité au TSPT et réactivité aux indices de rappel.....</b>	<b>111</b>
1.1. But de l'article .....	111
1.2. Que fait l'article .....	112
1.3. Méthodes .....	112
1.4. Principaux résultats .....	113

1.5.	Conclusion .....	113
<b>2.</b>	<b>Impact des indices de rappel sur le développement du TSPT. ....</b>	<b>131</b>
2.1.	But article .....	131
2.2.	Que fait l'article .....	131
2.3.	Méthodes .....	131
2.4.	Principaux résultats .....	132
2.5.	Conclusion .....	132
<b>II –</b>	<b>Découplage monoaminergique .....</b>	<b>143</b>
<b>1.</b>	<b>Recherche de bases physiologiques commune entre TSPT et dépendance .....</b>	<b>143</b>
1.1.	But article .....	143
1.2.	Que fait l'article .....	143
1.3.	Méthodes .....	144
1.4.	Principaux résultats .....	144
1.5.	Conclusion .....	145
<b>III –</b>	<b>Tentatives thérapeutiques .....</b>	<b>181</b>
<b>1.</b>	<b>Modulation des symptômes du TSPT en fonction des conditions d'injections d'amphétamine .....</b>	<b>181</b>
1.1.	But article .....	181
1.2.	Que fait l'article .....	181
1.3.	Méthodes .....	182
1.4.	Principaux résultats .....	182
1.5.	Conclusion .....	182
<b>2.</b>	<b>Remodelage des souvenirs traumatiques : une nouvelle voie thérapeutique .....</b>	<b>210</b>
2.1.	But article .....	210
2.2.	Résultats préliminaires .....	210
2.3.	Que fait l'article .....	214
2.4.	Méthodes .....	214
2.5.	Principaux résultats .....	214
2.6.	Conclusion .....	215
<b>C -</b>	<b>DISCUSSION .....</b>	<b>239</b>
<b>I-</b>	<b>Synthèse des résultats .....</b>	<b>241</b>
<b>1.</b>	<b>Apports de nos données par rapport à la littérature existante .....</b>	<b>241</b>
1.1.	Résilience et vulnérabilité .....	241
1.2.	Facteurs de risques .....	242
1.3.	Symptômes de type TSPT .....	243
<b>2.</b>	<b>Recherche d'une hypersensibilité aux indices de rappel .....</b>	<b>244</b>
2.1.	Réactivité aux indices associés au traumatisme .....	244

2.2. Modulation des souvenirs traumatiques par réactivations mnésiques répétées .....	246
<b>3. Recherche de sensibilisation comportementale et neurochimique .....</b>	<b>246</b>
<b>4. Modulation des souvenirs traumatiques par remodelage émotionnel : une nouvelle voie thérapeutique .....</b>	<b>248</b>
4.1. Remodelage avec amphétamine .....	248
4.2. Remodelage avec ocytocine .....	249
<b>II – Contribution de ce travail aux hypothèses de départ et perspectives .....</b>	<b>251</b>
<b>1. Hyper réactivité aux indices de rappel.....</b>	<b>251</b>
<b>2. TSPT et découplage monoaminergique .....</b>	<b>251</b>
2.1. Sensibilisation neurochimique et TSPT .....	251
2.2. Sensibilisation/désensibilisation comportementale et TSPT .....	252
2.3. Relations entre sensibilisation neurochimique et désensibilisation/sensibilisation comportementale.....	253
1- Désensibilisation comportementale .....	254
2- Relation entre désensibilisation comportementale et sensibilité neurochimique.....	255
3- Origine de ces désensibilisations .....	255
<b>3. Tentatives thérapeutiques .....</b>	<b>257</b>
3.1. Remodelage émotionnel .....	257
3.1.1. Principes et données chez l’animal .....	257
3.1.2. Le remodelage émotionnel chez l’homme .....	259
3.1.3. Remodelage ou perturbation de la reconsolidation ?.....	260
3.2. Recouplage pharmacologique des systèmes monoaminergiques .....	261
<b>III - Conclusion.....</b>	<b>263</b>
<b>ANNEXES .....</b>	<b>267</b>
<b>Table des illustrations .....</b>	<b>280</b>
<b>Table des tableaux .....</b>	<b>281</b>
<b>Bibliographie .....</b>	<b>282</b>





# **INTRODUCTION**



## *Introduction Générale*

Le monde d'aujourd'hui doit faire face à des phénomènes traumatiques qui deviennent trop courants. Longtemps associé à la guerre et aux militaires, le trouble de stress post traumatique (TSPT) devient de plus en plus fréquent dans la population générale, que ce soit à cause d'accidents (ferroviaires, automobiles, industriels), de désastres naturels, ou de terrorisme. Ce trouble est très invalidant pour les sujets qui le développent puisqu'ils sont confrontés à revivre en permanence ce traumatisme, par l'intermédiaire de reviviscences et flash-backs intenses, les conduisant à ressentir les mêmes sensations que lors du déroulement de l'événement. Les personnes atteintes de TSPT vont alors chercher à prévenir l'arrivée de ces intrusions en évitant tous stimuli qui pourraient être associés à l'événement traumatique, et qui sont à l'origine de ces réactivations mnésiques indésirables et douloureuses.

Le domaine public est également concerné par un trouble très présent dans la population générale, la pathologie de l'addiction. Les sujets dépendants montrent une grande sensibilité aux indices associés à la prise de drogue, qui va les conduire à un désir irrésistible de sa recherche et de sa consommation. Les individus devenant dépendants n'ont plus qu'une idée en tête : la recherche de la drogue au dépend de leur santé. Ce comportement incontrôlé génère des efforts permanents chez les patients abstinents pour éviter tout indice qui pourrait les conduire à la rechute.

Les traitements actuels de ces deux pathologies ne permettent pas une guérison efficace, et des taux de rechutes importants sont observés. Ces deux pathologies peuvent ainsi perdurer plusieurs années, indiquant que l'enjeu majeur pour la santé publique est de trouver des traitements efficaces et durables. Les nombreuses ressemblances entre trouble de stress post traumatique et addiction ont été le point de départ de cette thèse.

Les recherches fondamentales entreprises par l'équipe se concentraient initialement sur la réactivation mnésique induite par exposition à des indices de rappel. Ces recherches ont permis d'accumuler un certain nombre de données sur la caractérisation des circuits neurobiologiques impliqués (Gisquet-Verrier, 2009). Ayant constaté des recouvrements entre les circuits impliqués dans la réactivation mnésique suite à un apprentissage et ceux mis en jeu lors de l'exposition à des stimuli liés à un traumatisme, l'équipe propose de considérer le TSPT, non pas comme une pathologie du stress, mais plutôt comme une

pathologie de la réactivation mnésique. L'hypersensibilité aux indices associés à l'événement traumatique pourrait être la base du développement et du maintien du trouble de stress post traumatique, et son dysfonctionnement serait le stimulus déclencheur de son développement. L'hypersensibilité aux indices de rappel, également présente dans l'addiction, est aussi responsable de rechutes, même après de longues périodes d'abstinence. Les processus neurobiologiques mis en jeu après exposition à des indices liés à la consommation de drogue recouvrent largement ceux de la réactivation mnésique, suggérant qu'un dysfonctionnement de celle-ci pourrait également être impliqué dans cette deuxième pathologie. L'équipe propose alors que l'exposition à des événements fortement chargés émotionnellement (positivement ou négativement) induit un dysfonctionnement de la réactivation mnésique, rendant ainsi les individus hypersensibles aux indices associés à l'événement. Cette hypothèse suppose qu'un mécanisme commun pourrait être à l'origine des pathologies de TSPT et d'addiction.

Afin d'introduire de façon plus détaillée les travaux qui ont servi de base à ceux réalisés au cours de cette thèse, ce manuscrit reprend dans un premier temps les notions relatives aux fonctions et aux dysfonctions de la réactivation mnésique. Ensuite, les concepts et connaissances autour du trouble de stress post traumatique seront expliqués dans une deuxième partie. Une troisième partie sera consacrée aux caractéristiques reliant le traumatisme et l'addiction, qui conduisent au concept de découplage monoaminergique. Enfin, nous aborderons les hypothèses et stratégies qui ont guidé ce travail de recherche.

## I – Réactivation mnésique : fonctions et dysfonctions

Le rappel mnésique est un processus complexe qui permet d'utiliser une information préalablement acquise. La réactivation mnésique est la première étape de ce processus, et correspond à la recherche et à l'activation du souvenir cible parmi tous les souvenirs latents, le rendant alors accessible pour son utilisation éventuelle lors d'une phase de rappel prenant place après la phase de réactivation. La réactivation est déclenchée par des indices environnementaux. Elle peut être spontanée et intervenir en réaction à des indices présents dans l'environnement interne du sujet (comme un état de peur ou de faim) ou externe au sujet (comme un objet ou un lieu). La réactivation peut être volontaire, dirigée par le sujet lui-même qui va alors générer des indices propres à provoquer la réactivation du souvenir. Elle peut également être dirigée lorsqu'elle est induite par un tiers qui va fournir les indices nécessaires. Cette phase dite de réactivation constitue donc une étape essentielle des processus mnésiques. Pourtant, bien que déterminante, régulièrement décrite, et fréquemment utilisée, la réactivation mnésique n'a jamais reçu beaucoup d'intérêt tant chez l'homme que chez l'animal. Aujourd'hui, bien que sa distinction des processus de rappel reste encore questionnable pour beaucoup, la réactivation mnésique est de plus en plus reconnue comme une étape à part entière des processus mnésiques (Gisquet-Verrier and Riccio, 2012).

### 1. Historique

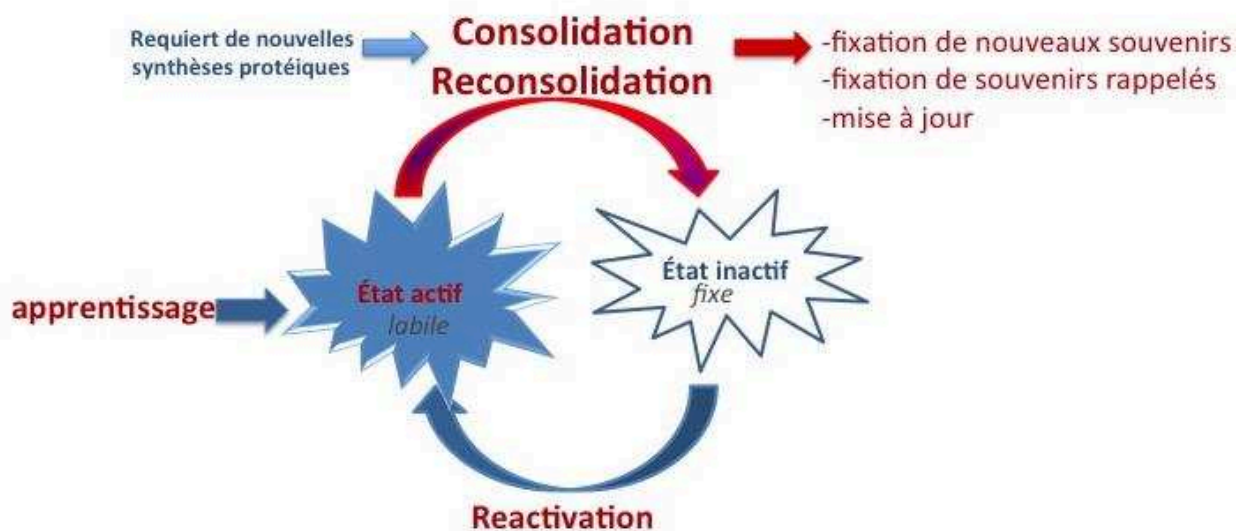
L'utilisation de procédures d'exposition à des indices pour induire un rappel de l'information a été introduite dans la littérature expérimentale à la fin des années 60. Cette période correspond à l'épanouissement de l'hypothèse de la consolidation formulée par James McGaugh (McGaugh, 1966). Cette hypothèse fait suite aux travaux de Ribot (1883), puis de Muller et Pilzecker (1900) sur des sujets humains, montrant que les souvenirs récents sont vulnérables aux perturbations alors que les souvenirs anciens sont plus résistants à l'oubli. McGaugh propose que les souvenirs passent par une phase de labilité et de vulnérabilité avant d'être définitivement fixés, ou consolidés. La consolidation fait donc référence à ces processus de stabilisation progressive de la trace mnésique, mettant en jeu une synthèse protéique. Cette hypothèse est basée sur de nombreux travaux réalisés sur l'animal montrant que des traitements perturbant le fonctionnement cérébral comme des électrochocs, des anesthésies, ou des inhibiteurs de la synthèse protéique (pour revue voir

Hars, 1980), délivrés peu après l'acquisition d'un apprentissage, perturbent sa rétention ultérieure, c'est-à-dire diminue la performance de l'animal sur un test identique. Ces études montrent que la perturbation est d'autant plus forte que le traitement est appliqué rapidement après la fin de l'apprentissage : on parle de gradient d'amnésie rétrograde. L'explication retenue est que la fixation/stabilisation d'un souvenir se réalise au cours d'une période temporelle allant de quelques minutes à quelques heures. De très nombreuses études se sont attachées à mettre en évidence ce phénomène après des apprentissages divers et chez toutes sortes d'espèces afin de démontrer sa généralité et d'établir la durée de cette période de consolidation. Si l'amnésie rétrograde résulte d'une perturbation de la consolidation qui empêche la fixation du souvenir, elle doit perdurer et aucune amnésie ne doit pouvoir être obtenue pour des souvenirs consolidés.

Toutefois, et à peu près à la même époque, des cas de recouvrements spontanés ont été rapportés suggérant que l'effet des traitements était peut-être plus sur le rappel des souvenirs que sur leur encodage. C'est dans le but de favoriser le rappel d'une information que des indices partiels de la situation d'apprentissage ont été présentés peu avant l'épreuve de rétention, à des animaux rendus amnésiques par un traitement délivré immédiatement après l'apprentissage. De nombreuses études ont ainsi révélé que la présentation d'indices de rappel, tels que le stimulus conditionnel (comme un son associé à la présentation d'un choc), le stimulus inconditionnel (le choc en lui-même), ou des éléments du contexte d'apprentissage, est capable d'améliorer la performance de rétention perturbée par l'administration d'un traitement amnésiant (Lewis, 1969; Spear, 1978; Hars, 1980). A la même période, d'autres études ont montré que la sensibilité d'un souvenir à un traitement amnésique ne se limite pas aux minutes qui suivent l'apprentissage, et qu'une perturbation pouvait être obtenue après plusieurs heures, voire plusieurs jours, si le traitement était précédé de l'exposition à un indice de rappel (Spear, 1978; Hars, 1980).

Lewis (1969, 1979) propose alors de distinguer deux états possibles d'un souvenir : l'état actif qui correspond à l'état du souvenir lors de son élaboration ou juste après la présentation d'un indice de rappel, et l'état inactif qui correspond à l'état de la plupart de nos souvenirs qui, bien que présents, sont en dormance et ne sont donc pas utilisables immédiatement. Le passage de la trace de l'état inactif à l'état actif est appelé réactivation, alors que le passage de l'état actif faisant suite à l'apprentissage, à l'état inactif correspond à la consolidation. Ce double état de la trace clairement établi et analysé dès la fin des années 60 et rythmant les phases d'acquisition et de rappel n'a cependant pas retenu l'attention des

chercheurs. Ce n'est qu'en 2000 que ces données ont été réhabilitées par une série de travaux démontrant à nouveau la possibilité d'induire des perturbations de performance en appliquant des traitements amnésiants après la réactivation de souvenirs (Przybylski et al., 1999; Nader et al., 2000; Sara, 2000). Ces résultats soutiennent l'idée de Lewis (1979) concernant le double état de la trace d'un souvenir. Ainsi, il est largement admis aujourd'hui que la réactivation permet de remettre la trace mnésique dans un état proche de celui qu'elle avait lors de son acquisition. Un souvenir bien consolidé retrouve un état actif après sa réactivation ; cet état confère une fragilité au souvenir et il doit être à nouveau stabilisé pour pouvoir être conservé. Cette nouvelle période de consolidation que l'on nomme alors reconsolidation (Sara, 2000) est également sous-tendue par la synthèse de nouvelles protéines (voir figure 1).



**Figure 1 : schéma de la consolidation et reconsolidation**

*Schématisation des deux états possibles des souvenirs (active/inactive) ainsi que leurs caractéristiques respectives. La phase permettant le passage de l'état inactif à l'état actif s'appelle la réactivation, la phase qui permet le passage de l'état actif à l'état inactif s'appelle la consolidation/reconsolidation et elle met en jeu des synthèses protéiques. D'après Nader et Hardt, 2009.*

Ces travaux, contrairement à la première vague de la fin des années 60, ont eu un retentissement considérable et les études sur consolidation, reconsolidation, et sur leurs bases moléculaires et cellulaires ont spectaculairement augmenté (voir Alberini, 2011; Nader and Hardt, 2009; Riccio et al, 2003; Sara and Hars, 2006). Toutes ces recherches ont conduit à conférer à la mémoire un caractère plus dynamique que ne l'autorisait la conception



initiale de l'hypothèse de consolidation : la mémoire n'est pas figée dans un seul état, et peut être actualisée et modifiée grâce à la réactivation.

## 2. Caractéristiques et fonctions de la réactivation mnésique

### 2.1. Nature des indices permettant la réactivation

La réactivation de la trace mnésique, permettant de replacer un souvenir dans un état actif, est obtenue expérimentalement en exposant le sujet à des indices qui sont spécifiques de ce souvenir, que l'on appelle également indices de récupération ou indices de rappel. Les indices de rappel sont des éléments présents lors de l'élaboration du souvenir, qui peuvent être de différentes natures :

- indices contextuels tels que la pièce expérimentale, une partie de l'appareillage, des odeurs ou des bruits présents dans l'environnement
- indices liés au souvenir cible, par exemple un stimulus discriminatif, conditionnel (associé à un renforcement) ou inconditionnel (le renforcement en lui-même)
- indices qui replacent l'individu dans le même état interne (émotion) que celui présent lors de l'apprentissage, comme la peur, la faim, être sous l'influence de drogue, etc.

D'après les données obtenues dans l'équipe, on remarque que l'efficacité des indices de rappel dépend de la nature de ces indices, et qu'elle est modulée en fonction de l'intervalle de rétention. Peu après l'apprentissage, les indices les plus efficaces sont spécifiques, comme le stimulus conditionnel ou le stimulus inconditionnel. Longtemps après l'apprentissage, il semble que ce soit plutôt les indices plus globaux, comme les indices contextuels, qui soient les plus efficaces (Gisquet-Verrier et al., 1989). Les résultats obtenus sont semblables si la tâche apprise est aversive ou appétitive, suggérant l'effet général de cette modulation de l'efficacité des indices.

### 2.2. Effets comportementaux pendant la réactivation

L'exposition à des indices de rappel est capable d'induire des comportements particuliers. Par exemple, lorsqu'un son a été associé à un choc électrique, la présentation ultérieure de ce son est capable d'entraîner des réactions de peur chez le rongeur, comme le « freezing », correspondant à une immobilité de l'animal. Ce comportement indique que le son a réactivé l'association son-choc électrique présente dans le cerveau de l'animal, et met donc en évidence une réactivation (partielle ou totale) du souvenir associé (Nader et al.,

2000). L'exposition à des indices de rappel peut cependant ne pas entraîner de modifications immédiates visibles du comportement de l'animal, tout en ayant des conséquences à long terme sur la performance de rétention. Ainsi, la présentation du contexte expérimental délivré à des animaux dans une épreuve appétitive de parcours dans un labyrinthe complexe ne s'accompagne d'aucune manifestation objective de comportement. Cependant, lorsqu'il est délivré trois semaines après l'apprentissage, ce traitement est capable de diminuer significativement l'oubli (Deweer and Sara, 1985). Dans ce cas, la réactivation est inférée à partir des effets obtenus sur la performance de rétention et on parle alors de réactivation implicite. A la fin des années 60, ce manque d'arguments directs démontrant la réactivation a permis d'écarter cette interprétation qui allait à l'encontre de l'hypothèse de la consolidation et de proposer que l'exposition aux indices permettait de renforcer l'apprentissage initial ou d'augmenter la motivation (voir plus récemment Nader and Hardt, 2009). Aujourd'hui, la plupart des études sur la reconsolidation ont adopté des apprentissages de type son-choc, montrant des augmentations de freezing lors de la présentation ultérieure du son, permettant de mettre en évidence la réactivation du souvenir initial. Ainsi depuis les années 2000, il est admis que l'exposition à des indices de rappel puisse induire une réactivation, même sans manifestation comportementale de celle-ci. Toutefois, les études scientifiques s'attachent toujours à la mettre en évidence, ce qui restreint les conditions expérimentales utilisables.

### 2.3. Réactivation mnésique et amélioration de la performance

La réactivation mnésique induite par exposition à des indices de rappel permet dans de nombreuses circonstances, d'améliorer les performances de rétention lorsqu'elle est perturbée. Ces effets ont été mis en évidence après l'application de traitements amnésiants, comme des électrochocs, une hypoxie, une anesthésie ou une hypothermie (voir Gisquet-Verrier, 2009). La réactivation mnésique est également capable de compenser des perturbations spontanées de performance, comme l'effet Kamin, qui est une baisse passagère de la performance apparaissant de 1 à 6h après l'apprentissage et qui ne se maintient pas, ou l'oubli à long terme (Miller et al., 1986; Sara, 2000). Cet effet facilitateur de la réactivation mnésique sur les performances de rétention a été mis en évidence chez de nombreuses espèces (rongeurs, oiseaux, poissons, etc.) et après des apprentissages variés, qu'ils soient aversifs ou appétitifs (Hars, 1980). Il est d'ailleurs généralement obtenu lorsque la tâche n'a été que partiellement apprise.

Les études de l'équipe ont également montré qu'une facilitation de performance peut aussi être obtenue en l'absence de perturbation explicite de la performance de rétention (Gisquet-Verrier et al., 1989; Gisquet-Verrier, 2009). Un des rôles de la réactivation est donc de renforcer la mémoire, un effet plusieurs fois obtenu chez l'animal (Sara, 2000; Lee et al., 2008; Zhao et al., 2009; Marin et al., 2010) et plus récemment chez l'homme (Finn and Roediger, 2011).

#### 2.4. Réactivation mnésique et intégration de nouvelles informations

La possibilité de pouvoir mettre à jour un souvenir au moment du rappel n'est pas une idée nouvelle. Elisabeth Loftus, dans son travail sur les faux souvenirs, mentionnait dès 1979 la possibilité d'intégrer de nouvelles informations au moment du rappel. Les études menées sur la reconsolidation ont proposé que l'une de ses fonctions possibles était de permettre la mise à jour des souvenirs (Hupbach et al., 2007, 2008; Lee et al., 2008; Alberini, 2011). Récemment, Gisquet-Verrier et Riccio (2012) ont proposé que l'intégration de nouvelles informations résulte principalement de la réactivation. C'est elle qui conférerait au souvenir un état de malléabilité permettant d'intégrer des informations diverses à ce souvenir dans le but de le mettre à jour. Ces auteurs soulignent que de nombreuses données indiquent que l'intégration peut être détectée très rapidement (à partir de 5 min après réactivation), avant qu'une hypothétique phase de reconsolidation ne se mette en place (Gordon, 1981; Stark et al., 2010).

D'après les études réalisées, on remarque que le type d'information qui peut être intégré au souvenir initial au moment de la réactivation est généralement contextuel. Ainsi, si un nouveau contexte est présenté soit juste après un apprentissage, soit lors de la réactivation de cet apprentissage, la perturbation de performance généralement obtenue lorsque le test de rétention est réalisé dans ce nouveau contexte, n'est plus constaté indiquant qu'il a été intégré dans le souvenir initial (Gordon, 1981; Briggs et al., 2007; Briggs and Riccio, 2008). De nouvelles associations peuvent être réalisées lors de la réactivation. Ainsi, des rats ayant reçu une association lumière-choc dans un contexte A, vont montrer des réactions de peur au contexte B après une réactivation par exposition à la lumière seulement, réalisée dans ce contexte, indiquant que ce nouveau contexte a été associé à la peur pendant la réactivation à l'aide de l'exposition à la lumière (voir aussi Rudy et al., 2002; Lee, 2010).

Des données récemment obtenues dans l'équipe indiquent la possibilité d'intégrer de nouvelles informations à un souvenir initial, en utilisant l'état interne de l'animal. La modification de l'état interne par une injection du chlorure de Lithium, substance provoquant un malaise gastrique, juste après un conditionnement induit une perturbation de performance lors du test de rétention qui peut être compensée en restaurant l'état interne par une autre injection de drogue. Des données similaires ont été obtenues en substituant le chlorure de Lithium par un inhibiteur de synthèse protéique (Gisquet-Verrier et al., 2015), induisant lui aussi un état interne différent de l'état initial.

### 3. Bases neurobiologiques de la réactivation mnésique

#### 3.1. Bases neurobiologiques de la réactivation mnésique

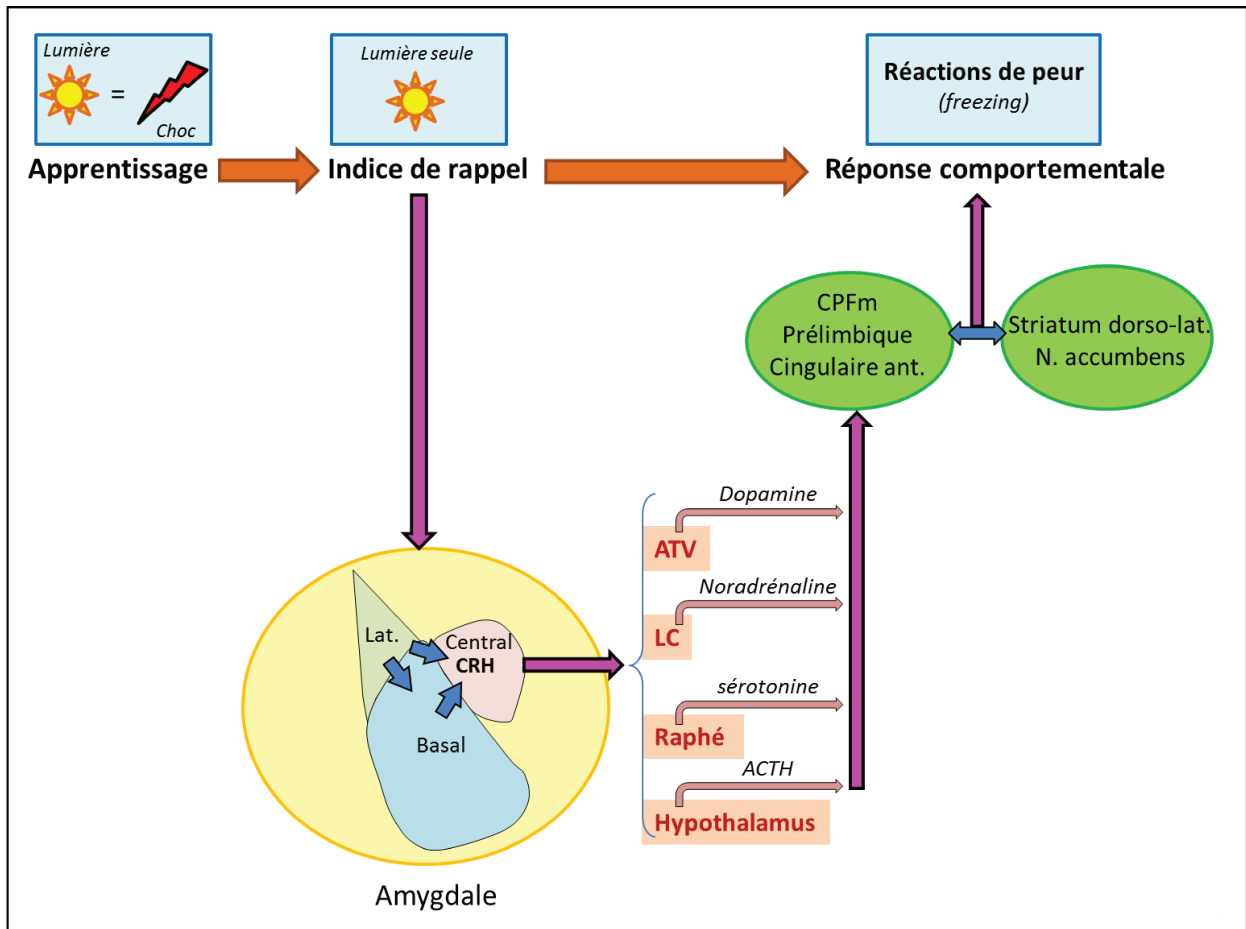
Jusqu'à présent, très peu d'études se sont intéressées aux circuits sous tendant la réactivation mnésique induite par la présentation d'indice de rappel. Il est très probable qu'il n'existe pas un circuit « type » de la réactivation mnésique, sachant que les structures cérébrales activées après réactivation doivent dépendre de la nature du souvenir réactivé. Cependant, l'examen d'études utilisant des procédures de réactivation par présentation d'indice peut révéler les structures qui sont indispensables à cette première étape des processus de rappel de l'information, à l'aide du développement de l'imagerie cérébrale chez l'homme.

L'exposition à des indices visuels évoquant la peur induit l'activation d'un réseau subcortical (colliculus supérieur et noyau pulvinar du thalamus) conduisant à l'activation de l'amygdale et entraînant un réseau cortical incluant le cortex cingulaire antérieur, et l'insula (Ohman, 2005). L'exposition à des stimuli plaisants, comme des stimuli sexuels, entraîne également une activation de l'amygdale associée aux cortex préfrontal médian, cingulaire, pariétal et insulaire (Redouté et al., 2005; Bühler et al., 2008). Dans ces études, l'implication de l'hippocampe n'est pas rapportée, soutenant alors les données obtenues chez des patients amnésiques avec des atteintes hippocampiques capables d'améliorations de performance après présentation d'indices de rappel (Warrington and Weiskrantz, 1968). Ces études chez l'homme suggèrent ainsi que la réactivation mnésique repose sur un circuit impliquant amygdale, cortex préfrontal et insulaire.

Chez l'animal, l'exposition à des indices de rappel s'accompagne également d'un certain nombre de modifications cérébrales. Ainsi, le placement d'un rat dans une boîte dans laquelle il a préalablement reçu un choc électrique s'accompagne de réponses similaires à

celles recueillies lors de la présentation du choc lui-même, comme l'expression de c-fos, un gène immédiat précoce considéré comme un marqueur de l'activité neuronale, dans le locus coeruleus (Beck and Fibiger, 1995), des augmentations de l'activité des cellules de cette structure (Sara and Segal, 1991), et des augmentations de noradrénaline dans le cortex préfrontal (Goldstein et al., 1996; Feenstra, 2000). Suite à des renforcements positifs, des augmentations de l'activité noradrénergique après exposition à des stimuli associés à ces renforcements ont également été rapportés dans le locus coeruleus (Sara and Segal, 1991), dans les bulbes olfactifs (Brennan et al., 1998) et dans le cortex préfrontal (Feenstra, 2000). Les études réalisées au sein de l'équipe sur des rats entraînés dans une épreuve de discrimination lumineuse en situation aversive, révèlent que des lésions de l'hippocampe n'affectent pas la réactivation mnésique (Gisquet-Verrier and Schenk, 1994), supportant les données obtenues chez l'homme. Les effets facilitateurs des indices de rappel sont bloqués après des lésions du cortex préfrontal médian, du striatum dorso-latéral, des stimulations de l'amygdale (Baker et al., 1981) ainsi que par l'inhibition de la libération des hormones de stress au niveau de l'axe corticotrope (Botreau et al., 2004; Gisquet-Verrier et al., 2004; Gisquet-Verrier, 2009). Il a également été montré dans une étude utilisant de l'imagerie ex-vivo par autoradiographie que l'exposition à un indice de rappel induit des activations d'un nombre restreint de structures cérébrales dont l'amygdale (noyaux central, latéral et basal), l'hypothalamus (noyaux antérieur et suprachiasmatique), le noyau accumbens, le septum médian et le cortex insulaire (Boujabit et al., 2003). Ces données confirment quelques données montrant des augmentations de métabolisme dans l'amygdale et dans l'hypothalamus après réactivation mnésique, sans modification notable au niveau de l'hippocampe (voir Feenstra, 2000).

Les données de la littérature, ainsi que celles de l'équipe, ont permis de proposer que la réactivation mnésique s'accompagne de l'activation d'un circuit impliquant l'amygdale, le cortex préfrontal, le striatum et l'axe corticotrope (ou hypothalamo-hypophysaire), ainsi que la libération de neuromédiateur (voir figure 2), avec en particulier la noradrénaline, avec un rôle essentiel de l'émotion dans la réactivation mnésique.



**Figure 2 : Schéma hypothétique de la réactivation mnésique induite par la présentation d'un indice de rappel.**

*L'indice de rappel visuel va activer le noyau latéral de l'amygdale après un relai thalamique. Par des connexions CRH (corticotropin-releasing hormone) dépendantes issues du noyau central de l'amygdale, plusieurs systèmes de neuromodulation sont activés. Le cortex préfrontal médian reçoit un afflux de neuromédiateurs qui va induire un éveil attentionnel qui va permettre la réactivation du souvenir. Grâce aux interactions entre préfrontal et striatum, le rappel de la réponse comportementale est facilité. D'après Gisquet-Verrier, 2009*

Les données obtenues avec une épreuve de discrimination lumineuse en situation d'évitement ont été partiellement répliquées en utilisant une version appétitive de la tâche, dans laquelle le rat est entraîné à rejoindre le compartiment lumineux afin d'obtenir une boulette de nourriture. Dans ces conditions, il a été montré que l'exposition aux indices de rappel peut faciliter la performance de rétention dans les mêmes conditions que celles décrites dans la version aversive (Gisquet-Verrier, 2009). Des traitements capables de perturber la réactivation mnésique dans la tâche aversive, ont également les mêmes effets dans la version appétitive de cette même tâche.

C'est notamment le cas de l'antagoniste du récepteur R1 à la corticolibérine (corticotropin-releasing hormone ou CRH), le CP 154.526, qui empêche la synthèse de corticotropine (adrenocorticotropin-hormone ou ACTH). Délivré avant l'exposition à un indice de rappel efficace sur le comportement, cet antagoniste bloque les effets facilitateurs de l'exposition au stimulus discriminatif dans la version aversive et dans la version appétitive de notre discrimination lumineuse (Gisquet-Verrier, 2009). Ces données montrent l'implication de l'axe corticotrope (hypothalamo-hypophysaire) dans les processus de réactivation mnésique et suggèrent que ces processus sont comparables, que la tâche soit aversive ou appétitive.

La littérature obtenue chez l'homme et chez l'animal suggère ainsi que la réactivation mnésique est un processus implicite et automatique, basé sur la valence émotionnelle des indices de rappel. Elle met en jeu un circuit amygdalo-préfronto-striatal avec une implication importante des neuromodulateurs, sans participation de l'hippocampe.

### 3.2. Bases cellulaires et moléculaires de la réactivation mnésique

Bien que de nombreuses études s'intéressent aux mécanismes qui régulent la consolidation et la reconsolidation, très peu ont examiné ceux qui régulent la déstabilisation de la trace mnésique après réactivation par un indice de rappel. Une fois réactivé, le souvenir redevient sensible à des agents perturbateurs, comme les agents dits amnésiants et notamment aux inhibiteurs de synthèse protéique, tout comme ils le sont pendant la phase de consolidation (Nader and Hardt, 2009), indiquant que la trace retourne dans un état de fragilité et de vulnérabilité.

La synthèse de nouvelles protéines semble donc nécessaire à la re-stabilisation du souvenir après réactivation. Les quelques études travaillant sur les mécanismes de réactivation suggèrent que la réactivation pourrait être sous-tendue par un processus inverse de celui de la consolidation : alors que la consolidation implique une synthèse protéique, la réactivation impliquerait une dégradation de protéines (Artinian et al., 2008; Lee et al., 2008). L'activation du système protéasome-ubiquitine, générant une dégradation protéique, rendrait le souvenir instable, autorisant alors l'incorporation de nouvelles informations (Jarome et al., 2015). Cela expliquerait aussi pourquoi une nouvelle synthèse de protéine est nécessaire après réactivation pour re-stabiliser le souvenir modifié. L'inhibition de cette dégradation dans l'hippocampe après réactivation d'une mémoire de peur contextuelle empêche la trace de devenir fragile, la rendant insensible aux inhibiteurs de synthèse protéique. D'après ces auteurs, la dégradation de protéine induit par le système

proteasome-ubiquitine constituerait un mécanisme de plasticité qui serait indispensable pour la mémoire et notamment pour l'intégration de nouvelles informations, la réactualisation des souvenirs et sa réorganisation (Lee, 2010; Kaang and Choi, 2011; Reis et al., 2013). Plus récemment, il a été montré que l'initiation du processus de déstabilisation nécessitait l'activation des récepteurs au glutamate NMDA dans l'hippocampe (Lopez et al., 2015), ainsi que l'activation de la CaMKII en amont de l'activité du système protéasome-ubiquitine (Jarome et al., 2016). Cependant les études sur les mécanismes de la réactivation restent peu nombreuses et ne semblent pour l'instant pas suscité trop d'attention dans la sphère scientifique.

#### 4. Dysfonctions de la réactivation mnésique

Comme tout processus, il arrive que le fonctionnement de la réactivation mnésique soit perturbé. Un dysfonctionnement de la réactivation mnésique peut alors conduire à des perturbations du rappel. De tels dysfonctionnements sont suspectés d'être à l'origine d'un certain nombre de pathologies de la mémoire. Cependant, dans le cas d'amnésies liées à des lésions du lobe temporal médian, de nombreuses données chez l'homme montrent que l'atteinte touche le rappel explicite de la mémoire, préservant les capacités de rappel implicite par amorçage. Ces données peuvent suggérer que l'étape de réactivation est encore partiellement ou totalement fonctionnelle. Cette position est cohérente avec les données présentées précédemment montrant que l'exposition à des indices de rappel ne semble pas entraîner d'activation de l'hippocampe. De plus, chez l'animal, nous avons pu montrer que des animaux porteurs de lésions de l'hippocampe pouvaient toujours améliorer leur performance à la suite de l'exposition à des indices de rappel (Gisquet-Verrier and Schenk, 1994). Toutefois, à l'inverse, un hyperfonctionnement des processus de réactivation devrait induire une sensibilité exacerbée aux indices environnementaux. Ce phénomène d'hyperfonctionnement mnésique est décrit dans un certain nombre de pathologies et notamment dans la dépendance aux drogues d'abus et dans le trouble de stress post traumatique, et conduit à un désir de drogue et à des reviviscences intenses du traumatisme, responsables de nombreuses rechutes.

##### 4.1. Dépendance aux drogues d'abus

Les individus qui développent une dépendance aux drogues d'abus relatent une hypersensibilité aux indices associés à la consommation de drogue qu'ils tentent d'éviter en



période d'abstinence sous peine d'être confrontés à un puissant désir de drogue. Ce désir, ou « craving », peut conduire à la rechute dans la dépendance aux drogues, même après de longues périodes d'abstinence. L'exposition à ces stimuli associés à la consommation de drogue s'accompagne de l'activation d'un certain nombre de structures cérébrales, notamment l'amygdale et le cortex préfrontal (voir Grant *et al*, 1996; See, 2002).

Sachant que les rechutes après abstinence chez des patients pharmacodépendants sont la principale cause de la pérennisation de la pathologie chez l'homme, des modèles animaux de la rechute, impliquant une procédure de « reinstatement » (restauration), ont été développés. Ils consistent à faire acquérir une dépendance à la drogue en présence de stimuli sensoriels associés à sa consommation (son, lumière), puis à éteindre la réponse comportementale conduisant à l'accès de la drogue. La rechute peut alors être provoquée de trois façons différentes : par l'exposition aux indices associés à la prise de drogue (stimulus conditionnels ou contextuels), par une faible injection de drogue (le stimulus inconditionnel) et par un stress (indice de rappel de l'état interne ; Shaham *et al.*, 2003). Les études d'imagerie obtenues présentent une forte parenté avec les données associées à la réactivation d'un souvenir par exposition aux indices de rappel, en termes de structures et de processus mis en jeu (Gisquet-Verrier, 2009). Cela suggère que l'hypersensibilité aux indices pourrait être responsable de la dépendance et du fort taux de rechute dans l'addiction, supposant alors que cette pathologie viendrait d'un dysfonctionnement de la réactivation mnésique.

#### 4.2. Troubles de stress post-traumatique

Curieusement, l'exposition à des stimuli anormalement aversifs, comme ceux associés à des traumatismes, conduit à des effets comparables. Le trouble de stress post traumatique, ou TSPT, se caractérise par des rappels récurrents de l'épisode traumatisant spontanés ou induits par des informations ayant un rapport avec l'épisode traumatique. Ces reviviscences sont très éprouvantes car elles replacent le sujet dans le même état de terreur que celui ressenti lors du traumatisme. Pour éviter que ces reviviscences ne se produisent, les sujets tentent d'éviter les indices de rappel du traumatisme en restant chez eux (repli social). L'imagerie cérébrale a montré que ces réactivations s'accompagnent chez l'homme d'activations de l'amygdale et du cortex préfrontal (Liberzon *et al.*, 1999c; Newport and Nemeroff, 2000). Un certain nombre de modèles animaux qui reproduisent cette pathologie sont basés sur l'administration de divers événements traumatisants et en particulier des

chocs électriques intenses ou l'exposition à des prédateurs naturels. La présentation ultérieure d'informations liées aux événements traumatisants (contextuels ou spécifiques) s'accompagne d'un certain nombre de réponses biologiques très comparables à celles observées chez l'homme comme des augmentations des taux d'ACTH, des activations de l'amygdale, du cortex préfrontal et une dérégulation du système noradrénergique. Le TSPT est donc une pathologie correspondant à une exposition à des événements extrêmes, qui se caractérise par une hypersensibilité aux indices de rappel et qui met en jeu un circuit cérébral présentant des similitudes avec celui mis en jeu dans le cas de l'addiction. Ces données ont conduit l'équipe à faire l'hypothèse que cette pathologie pourrait également être due à un dysfonctionnement de la réactivation mnésique.

Dans l'addiction ou dans le trouble de stress post traumatique, l'exposition aux indices de rappel est à l'origine d'épisodes de reviviscences émotionnellement intenses qui entretiennent la pathologie des sujets et peuvent entraîner des rechutes après une période prolongée d'abstinence ou de rémission (Gisquet-Verrier, 2009). Cela suggère que des processus identiques pourraient sous-tendre l'hypersensibilité aux indices de rappel présente dans ces deux pathologies.



## II – Une pathologie de la réactivation mnésique : le trouble de stress post traumatique (TSPT)

### 1. Caractéristiques du TSPT

Le trouble de stress post traumatique est une pathologie psychiatrique qui a une origine connue, à savoir un traumatisme unique ou répété impliquant des expériences menaçants la vie, comme les combats de guerre, un accident de voiture, un viol, ou des attaques visant un individu ou une personne qui lui est chère (DSM-5 ; American Psychiatric Association, 2013). Le trouble de stress post traumatique est une pathologie qui a toujours existé, puisque des témoignages sur la peur au combat remontent aussi loin que l'écriture. La description de désordres mentaux provoqués par l'exposition au combat se retrouve dès 480 avant J.C. Pourtant, ce n'est qu'à partir du XIXème siècle que les scientifiques portent intérêt à cette pathologie qui devient plus fréquente, notamment par l'accroissement de la puissance de feu, de la durée des combats (guerre de Sécession 1861-1865), et par les progrès technologiques responsables d'accidents ferroviaires de grande ampleur. Considéré comme une « névrose traumatique », ce n'est qu'après les nombreuses guerres du début du XXème siècle que le terme de « gross stress reaction » (« réaction de stress majeur ») apparaît dans la première version du DSM en 1952. Disparu de la deuxième version du DSM, il réapparaît dans le DSM-III sous le terme de « Post-Traumatic Stress Disorder » (PTSD) ou « Trouble de Stress Post-Traumatique » (TSPT) en français, regroupant cette fois les syndromes de guerre (à la suite de la guerre de Viêt-Nam entre autre), tout comme les troubles présents chez les femmes, tels que les syndromes traumatiques de viol ou de femme battues (Andreasen, 2010), négligés par les scientifiques dans les versions précédentes. Le TSPT va être décrit de plus en plus précisément, s'intéressant à la dimension dissociative de l'individu et à l'état de stress aigu dans la version du DSM-IV. Ce n'est que dans sa dernière version de 2013 que les troubles propres aux traumatismes de jeunes enfants sont intégrés en tant que sous type du TSPT.

#### 1.1. Définition et symptômes

Le trouble de stress post traumatique est défini comme un trouble qui « constitue une réponse différée ou prolongée à une situation ou à un événement stressant (de courte ou longue durée), exceptionnellement menaçant ou catastrophique et qui provoque des

symptômes de détresse chez la plupart des individus » (Classification statistique internationale des maladies et des problèmes de santé connexes – CIM 10, de l'organisation mondiale de la santé). S'il est rare de connaître la cause exacte d'un trouble psychiatrique, elle est ici clairement identifiée : l'exposition à un événement traumatisant, qui est également le premier critère dans le diagnostic du TSPT (critère A du DSM-5). Les symptômes se caractérisent en quatre catégories : (1) les symptômes d'intrusion, (2) l'évitement, (3) les altérations de la cognition et de l'humeur, (4) les altérations de l'éveil et de la réactivité (voir tableau 1).

La première catégorie de symptômes (critère B du DSM-5) considère toutes les formes d'intrusions mnésiques de l'événement traumatique, que ce soit sous forme de reviviscences ou flashbacks, pendant lesquelles l'individu va revivre la situation comme si elle se reproduisait à nouveau devant lui, où des images de la situation qui reviennent de façon incontrôlée, ou sous forme de cauchemars traumatique. L'exposition à des stimuli associés au traumatisme peut aussi conduire à des réactivités physiologiques marquées avec une détresse intense ou prolongée à leur exposition. La deuxième catégorie (critère C) se caractérise par l'évitement des indices de rappel, avec un effort persistant pour éviter tout stimulus ou pensées associées au traumatisme. Les altérations de la cognition et de l'humeur (critère D) sont représentées par des croyances négatives, une incapacité à ressentir des émotions positives, des émotions négatives persistantes liées au traumatisme, un sentiment de culpabilité, une anhédonie et même une amnésie sur un élément clé du traumatisme. Enfin, la dernière catégorie (critère E) correspond à des comportements agressifs ou à risque, une hypervigilance avec une réponse de sursaut exagérée, des troubles du sommeil et des problèmes de concentration.

D'autres critères du DSM-5 (critères F à H) précisent que les symptômes doivent persister pendant au moins un mois, avec une détresse et une altération significative fonctionnelle (professionnelle ou sociale), et que ces perturbations ne doivent pas être dues à la prise de substance ou à un autre trouble.

**Critère A : Facteur de Stress** : Le sujet a été exposé à la mort, la menace de mort, à des blessures ou menaces de blessures graves, ou à la violence sexuelle ou menace d'agression, répondant à un des points suivants :

- Exposition directe
- Témoin direct
- Indirectement, en l'apprenant d'un proche qui a été exposé au traumatisme (événement impliquant une mort ou une menace de mort ayant été violent ou accidentel)
- Exposition indirecte, extrême ou répétée, habituellement dans l'exercice de ses fonctions professionnelles (comme les premiers intervenants d'une catastrophe ou les professionnels exposés de manière répétée à des maltraitements sur enfants). Cela ne comprend pas l'exposition non professionnelle et indirecte, par le biais des médias, films ou images.

**Critère B : Symptômes d'intrusion** : L'événement traumatique est revécu de manière persistante selon au moins une des formes suivantes :

- Des souvenirs du traumatisme envahissants, intrusifs, récurrents et involontaires
- Des cauchemars traumatiques
- Des réactions de dissociations comme des flashbacks (où la personne revit l'événement dans le présent avec des réactions physiologiques et psychologiques similaires à celles présentes lors du trauma), qui peuvent se produire dans un espace-temps de courts épisodes, jusqu'à la perte de conscience
- Une détresse intense ou prolongée suite à des rappels traumatiques
- Une réactivité physiologique marquée après l'exposition à un stimulus lié ou ressemblant au traumatisme.

**Critère C : Évitement** : Efforts persistants d'évitement des stimuli associés au traumatisme, suivant un des critères suivants :

- Par des pensées ou sensations liées au trauma
- Par un rappel externe lié au traumatisme, tels que des personnes, des lieux, des conversations, des activités, des objets ou des situations.

**Critère D : Altérations de la cognition et de l'humeur** : Elles ont commencé ou se sont aggravées après l'événement traumatique suivant au moins deux des critères suivants :

- Incapacité à se rappeler un élément clé du traumatisme (amnésie dissociative)
- Croyances et attentes à propos de soi et du monde négatives et persistantes (tels que « je suis mauvais » ou « le monde est dangereux »)
- Une responsabilité déformée (de soi ou des autres) sur les causes de l'événement ou des conséquences qui ont suivi
- Des émotions négatives persistantes liées au traumatisme (telles que la peur, l'horreur, la colère, la culpabilité ou la honte)
- Une diminution marquée de l'attrait pour des activités autrefois pratiquées (pré-traumatiques)
- Un sentiment de détachement ou d'éloignement des autres
- Une incapacité persistante à ressentir des émotions positives (émoussement des affects)

**Critère E : Altérations de l'éveil et de la réactivité** : Elles ont commencé ou se sont aggravées après l'événement traumatique suivant au moins deux des critères suivants :

- Un comportement irritable ou agressif
- Un comportement imprudent ou autodestructeur
- Une hypervigilance
- Une réponse de sursaut exagérée
- Des problèmes de concentration
- Des troubles du sommeil

**Critère F : Durée** : Persistance des symptômes pendant au moins un mois

**Critère G : Détresse liée aux symptômes et une altération significative fonctionnelle** : incapacité professionnelle ou sociale

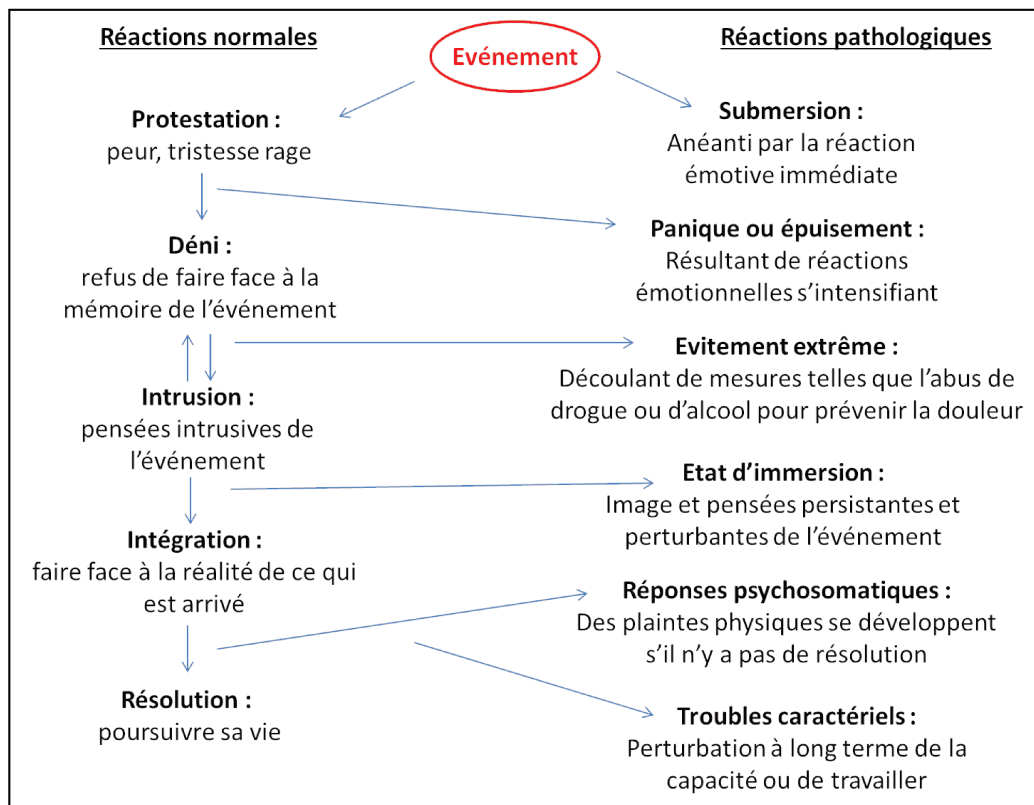
**Critères H : La perturbation ne doit pas être due à la prise de substances ou à un autre trouble**

*Les symptômes peuvent apparaître de manière différée ou immédiate*

**Tableau 1 – Critères diagnostiques du trouble de stress post traumatique selon le DSM-5 (2013)**

## 1.2. Développement

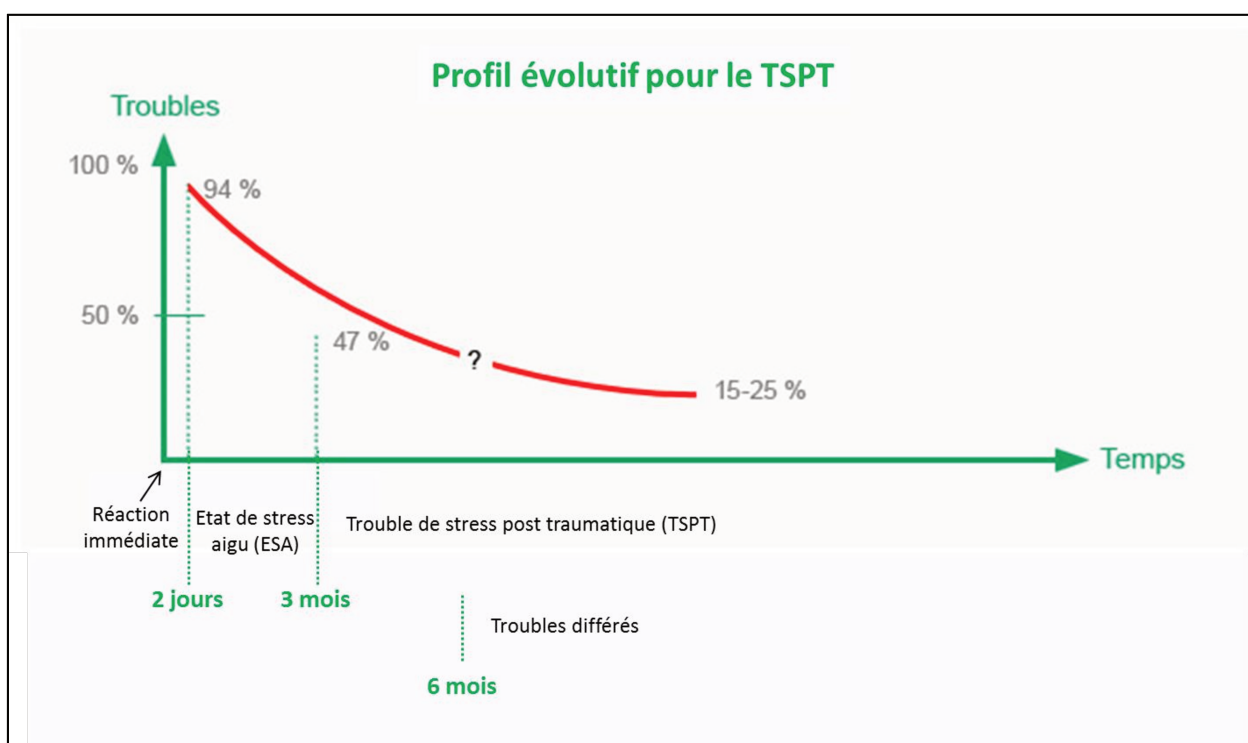
Différentes réactions ont été démontrées chez les personnes exposées pendant et après l'événement traumatique. En phase immédiate (quelques heures), l'individu peut réagir de façon adaptée ou non au stress. Une réponse adaptée se traduit par une augmentation de la fréquence cardiaque, de la fréquence respiratoire, de la glycémie. Ces réactions physiologiques permettent de mobiliser les facultés cognitives et de focaliser l'attention sur la situation menaçante, avec une incitation à l'action. Quatre formes de réponses inadaptées ont été répertoriées: (1) la sidération, avec une stupéfaction et une paralysie de l'individu, (2) l'agitation désordonnée, où l'individu est dans un état d'excitation, empêchant toute prise de décision adéquate, (3) la fuite panique, où l'individu cherche à fuir la menace de façon désordonnée, en bousculant tout le monde sans réellement savoir où aller, et (4) les mouvements automatiques, où l'individu va faire des gestes répétitifs et saccadés. Ces différentes réactions ont été intégrées dans le modèle dynamico-cognitif de Horowitz sur la comparaison entre les réactions normales et les réactions pathologiques présenté ci-dessous (figure 3).



**Figure 3 : Modèle dynamico-cognitif (Horowitz 1986)**

Réactions normales (colonne de gauche) et pathologiques (colonne de droite) après l'exposition à un événement traumatisant.

Dans un deuxième temps, en phase post immédiate (de 2 jours à 2 mois), on observe une diminution des symptômes pour un retour à la normale chez la plupart des sujets, alors que d'autres vont montrer des symptômes caractéristiques de l'Etat de Stress Aigu (ESA) dont le critère central est la dissociation. Il s'agit d'un diagnostic précoce, qui pourra évoluer vers celui du TSPT seulement dans le cas où les symptômes se pérennisent (Canini and Trousselard, 2010). Par ailleurs, un TSPT est considéré comme « aigu » si sa durée d'évolution est comprise entre 1 et 3 mois, et devient « chronique » au-delà de 3 mois. Il est caractérisé « avec survenue différée » si le début des symptômes apparaît au moins 6 mois après le traumatisme (figure 4).



**Figure 4 : Profil évolutif pour le TSPT, figure adaptée de l'institut de victimologie et de la défense gouvernementale**

*Le taux de personnes présentant des symptômes juste après l'événement traumatique est très élevé (94% à deux jours), pour diminuer au cours du temps pour atteindre une moyenne de 15-25% après plusieurs mois.*

### 1.3. Epidémiologie

La prévalence vie entière du TSPT, c'est-à-dire la proportion de personnes souffrant de cette pathologie, est de l'ordre de 0.7% en France (selon l'enquête de santé mentale réalisée entre 1999 et 2003), de 2% en Europe (Alonso et al., 2004; Atwoli et al., 2015), et de 7.8% aux Etats Unis (Kessler et al., 1995) avec un risque deux fois plus élevé pour les femmes



(10.4%) que pour les hommes (5%). Selon l'étude de Kessler et collaborateurs (Kessler et al., 1995), la prévalence d'exposition à un événement traumatique est de 60.7% des hommes et 51.2% des femmes. Comme seule une partie de la population exposée va développer la pathologie, il en ressort que 8.1% des hommes et 20% des femmes exposés développeront des symptômes du TSPT. Cette prévalence change néanmoins en fonction des types de traumatismes (tableau 2), ainsi qu'en fonction du sexe des individus traumatisés.

En effet, pour les hommes, les expériences traumatiques se rapportent souvent à des épisodes militaires, des accidents graves ou à des confrontations avec la mort (attentats, catastrophes naturelles...), alors que pour les femmes il s'agit souvent d'agression sexuelle ou de viol (Kessler et al., 1995; Breslau, 2002).

Type d'événement	Prévalence (%)
Mort soudaine/imprévue d'un proche	60 %
Agressions	28 %
Combat militaire	2 %
Viol	6 %
Agression sexuelle	6 %
Menace d'une arme	25 %
Battu sévèrement	11 %
Accident grave avec un véhicule	28 %
Désastre naturel	17 %
Diagnostic imprévu de maladie mortelle	5 %
Témoin d'un événement tragique où il y a des personnes gravement blessées ou tuées	29 %

**Tableau 2 : Prévalence du TSPT en fonction du type d'événement traumatisant, tiré des données de Breslau et al. 1998**

La probabilité d'apparition varie également en fonction du traumatisme : entre 20 et 60% des sujets exposés à des traumatismes extrêmes, tels que les situations de guerre ou d'attentats terroristes, vont développer un TSPT. Pour un viol, 65% des hommes et 46% des femmes vont développer un TSPT. Pour les violences physiques, ce taux est de l'ordre de 48.5%. Bien que les femmes soient en général moins exposées aux événements traumatiques, elles ont une plus grande probabilité de développer un TSPT.

Selon le DSM-5, les personnes qui souffrent de TSPT ont 80% plus de risques que les autres de souffrir d'un autre trouble mental, comme la dépression, l'addiction ou l'apparition de pensées suicidaires (Papastavrou et al., 2011). En effet, les comorbidités sont importantes avec un taux de 48.3% pour la dépression, et entre 35 et 40% pour les dépendances aux drogues d'abus ou à l'alcool. Le TSPT est une pathologie chronique, qui a une durée moyenne de 64 mois, soit plus de 5 ans, mais pour un tiers des patients elle peut durer plus de 10 ans. A cela s'ajoute une forte susceptibilité aux rechutes après des traitements, puisque plus de 40% des patients dont les symptômes ont diminués après traitement vont montrer des signes de rechute dans l'année qui suit l'amélioration de leur état (Tarrier et al., 1999).

## 1.4. Facteurs de risque

### 1.4.1. Facteurs pré-traumatiques

Certains facteurs présents avant le traumatisme ont été caractérisés comme étant à risque dans le développement du TSPT (pour revue Marchand et al., 2010; Brière, 2011). C'est le cas du genre de la personne touchée, avec un risque deux fois plus élevé pour les femmes que pour les hommes. Le fait d'avoir déjà subi un autre événement traumatique favorise également la survenue du TSPT, ce qui en fait une pathologie très fréquente dans certains métiers comme les policiers, les militaires ou les pompiers. Ce facteur joue aussi pour le reste de la population puisqu'il est rapporté que 30 % de la population subit au moins deux événements traumatiques dans sa vie. Les troubles psychiatriques, psychologiques, ou de la personnalité sont également des facteurs de risque, notamment les troubles de l'anxiété, de dépression, et de dépendance. Le fait d'avoir des antécédents familiaux de TSPT ou de troubles de la personnalité favorise également la survenue de ce trouble. Par ailleurs, si le statut socio-économique semble impliqué en favorisant l'apparition de TSPT dans les milieux défavorisés, les autres variables qui lui sont associées telles que le faible niveau de vie ne permet pas de confirmer à lui seul son statut de facteur de risque. Le fait d'avoir de faibles capacités cognitives est aussi impliqué dans la vulnérabilité au développement du TSPT (Macklin et al., 1998; Kremen et al., 2007; Parslow and Jorm, 2007). Un facteur de risque important est le névrosisme, qui est un trait de personnalité qui implique une sensibilité aux stimuli négatifs et à percevoir la réalité comme menaçante. Il a également été rapporté que la sensibilité à l'anxiété, la tendance à être anxieux, le

négativisme, l'introversion, l'évitement du danger et une faible estime de soi pouvait favoriser la survenue d'un TSPT.

A un niveau physiologique, une réponse électrodermale élevée en réponse à un stress, une fréquence cardiaque rapide et un nombre important de récepteurs aux glucocorticoïdes (GR) dans les leucocytes favorisent la survenue d'un TSPT (Pole et al., 2009; Orr et al., 2012; van Zuiden et al., 2012). Anatomiquement, il semble également qu'un faible volume hippocampique soit un facteur de risque, d'après une étude réalisée sur les jumeaux (Gilbertson et al., 2002), bien que cette caractéristique puisse aussi être une conséquence du TSPT.

Par ailleurs, certains facteurs génétiques semblent influencer sur le risque de développer un TSPT (True et al., 1993; Xian et al., 2000; Stein et al., 2002). Notamment, le polymorphisme de gènes impliqués dans les systèmes de neurotransmission a été associé à la présence des symptômes du trouble de stress post traumatique. Plus précisément, des études ont montré des liens entre la pathologie et le gène codant pour le récepteur dopaminergique D2 (Comings et al., 1991, 1996; Voisey et al., 2009), le transporteur de la dopamine DAT1 (Segman et al., 2002), le récepteur bêta adrénergique ADRB2 (Liberzon et al., 2014), le récepteur à la sérotonine 5-HT2A (Lee et al., 2007), la séquence régulatrice du transporteur de la sérotonine 5-HTTLPR (Kilpatrick et al., 2007; Kolassa et al., 2010), et le gène codant pour le récepteur GABA alpha2 (Amstadter et al., 2009). De plus, il a été montré que le polymorphisme du gène codant pour une protéine chaperonne des récepteurs aux glucocorticoïdes, le FKBP5, augmentait le risque de développer les pathologies liées au stress ayant eu lieu dans l'enfance (abus physique ou sexuels ; Binder et al., 2008; Xie et al., 2010).

#### **1.4.2. Facteurs péri-traumatiques**

Les facteurs péri- et post-traumatiques sont considérés comme meilleurs prédictifs du développement du TSPT que les facteurs pré-traumatiques, (Brewin and Holmes, 2003; Ozer et al., 2003). Pendant et immédiatement après le traumatisme, les individus présentant de fortes réactions émotionnelles négatives, telles que la peur, la culpabilité, la tristesse, la honte ou la colère, ou de fortes réactions physiques d'anxiété, comme les tremblements ou les palpitations sont reconnus comme étant plus vulnérables au développement du TSPT. Ces « détresses péri-traumatiques » sont considérées comme des prédicteurs fiables du trouble de stress post traumatique. A cela s'ajoute des phénomènes de dissociation, présents notamment quand la détresse péri-traumatique est élevée (Marchand et al., 2010).

La dissociation se caractérise par une diminution de la prise de conscience de l'environnement. Le sujet a l'impression qu'il n'est que le spectateur de ce qui lui arrive et qu'il n'est pas directement impliqué, avec une absence de réactivité émotionnelle, une dépersonnalisation et une déréalisation. Cette dissociation est le facteur prédictif majeur de la survenue d'un TSPT. De plus, comme nous l'avons déjà évoqué, certains traumatismes sont plus à risque que d'autres. Ainsi, les événements traumatiques résultant d'intentions de nuire (comme par exemple les agressions sexuelles ou la torture) sont associés à des taux plus élevés de TSPT (Kessler et al., 1995; Mcfarlane and Yehuda, 1996) que des événements inattendus comme des accidents ou des catastrophes naturelles. La durée de l'événement est également impliquée, la sévérité des symptômes étant souvent corrélée à la durée du traumatisme (Marchand et al., 2010).

Il a aussi été rapporté qu'une hyper-adrénergic, associée à une fréquence cardiaque élevée ou un faible taux de cortisol pendant le déroulement de l'événement traumatique pouvait augmenter le risque de survenue d'un TSPT (Resnick et al., 1995; Shalev et al., 1998; Yehuda et al., 1998).

### **1.4.3. Facteurs post-traumatiques**

Les conditions prenant place après le traumatisme peuvent également influencer sur le développement potentiel de la pathologie. Une situation de vie stressante, la présence de réactions dépressives et de stress additionnels (décès de proches, perte d'emploi) sont des conditions qui favorisent le développement futur d'un TSPT. D'autres caractéristiques, tels que la présence d'un Etat de Stress Aigu (ESA), sont également considérés comme des facteurs de risque, puisque 80% des personnes présentant un ESA risquent de développer un TSPT (Brière, 2011). Le manque d'intervention précoce et de soutien social sont aussi soulignés comme facteurs de risques post-traumatiques. Enfin, il est également rapporté que de mauvaises stratégies de gestion de stress, notamment basées sur l'évitement, c'est-à-dire essayer d'éviter tout ce qui peut rappeler l'événement pour ne pas y faire face, conduisent à une symptomatologie plus marquée (Marchand et al., 2010).

## **1.5. Facteurs de protection/résilience**

Face aux facteurs de risque, il existe des facteurs de protection au développement du TSPT qui conduisent à la résilience. Des personnes sont dites résilientes lorsqu'elles arrivent

à maintenir un équilibre physiologique stable malgré l'exposition à une expérience traumatique (Bonanno, 2004).

### **1.5.1. Facteurs pré-traumatiques**

Tout à fait en miroir des facteurs de risque, le fait d'avoir une haute estime de soi, une capacité à relever des défis, un optimisme général, le sens de l'humour et un quotient intellectuel élevé sont des facteurs de protection (pour revue Marchand et al., 2010). Etre proche des autres et avoir un environnement familial stable et bienveillant ont également été notés comme étant protecteur. Le sentiment d'efficacité personnelle est aussi associé à une détresse traumatique plus faible. D'autre part, dans le cas des personnels à risque, avoir suivi une formation adéquate, permettant de réagir à des situations de stress, semble être bénéfique. Ces formations impliquent la présentation d'expériences acquises, des mises en situation diminuant ainsi l'impact du traumatisme et améliorant le sentiment de contrôle de telles situations. Des personnalités qui sont résistantes au stress en général, et qui appréhendent efficacement les situations stressantes avec une bonne capacité d'adaptation ont moins de risque de développer un TSPT.

Des facteurs génétiques peuvent également avoir une incidence sur les processus de résilience. En effet, certains polymorphismes du gène FKBP5, ainsi qu'une forte méthylation du gène codant pour le 5-HTT ont pour effet de diminuer le risque de développer un TSPT pour les personnes ayant déjà subi un traumatisme (Gillespie et al., 2009; Koenen et al., 2011).

### **1.5.2. Facteurs péri-traumatiques**

Aucune étude ne révèle de facteurs de protection péri-traumatiques, cependant on peut tout de même considérer que les individus qui ne développent pas des réactions considérées comme des facteurs de risques pendant le traumatisme sont potentiellement plus résilientes que les autres.

### **1.5.3. Facteurs post-traumatiques**

Les personnes utilisant une stratégie de gestion du stress plutôt centrée sur la résolution de problème, en opposition aux stratégies basées sur l'évitement ont plus de chance d'être résilientes. De même, la perception d'avoir les ressources nécessaires pour surmonter ce problème, amenant un sentiment de confiance serait protecteur (Marchand et

al., 2010). Un soutien social important, que ce soit dans l'environnement familial ou au travail et une écoute attentive de l'entourage sont également des facteurs de protection.

## 2. Mémoire et TSPT

Le souvenir autobiographique de l'événement traumatique chez les patients TSPT est associé à une composante émotionnelle anormalement élevée. Cette composante émotionnelle à un rôle majeur puisqu'elle peut avoir un effet bénéfique sur la rétention de souvenirs, que l'émotion soit positive ou négative (D'Argembeau et al., 2005; Dunsmoor et al., 2015). En effet, le souvenir connoté émotionnellement va généralement être plus durable et détaillé (McGaugh, 2003). Cette particularité semble avoir une fonction d'adaptation et de survie : les informations présentant un intérêt particulier, que ce soit dans l'immédiat ou pour une situation future, comme des situations dangereuses, déplaisantes ou aversives, doivent être intégrées rapidement et de façon détaillée (Damasio, 2003). Ces réponses émotionnelles, normalement associées à une fonction adaptative, peuvent avoir des effets indésirables sur la mémorisation si les émotions sont extrêmes, ce qui est le cas dans le trouble de stress post traumatique. Les réponses anxieuses inadaptées associées aux réponses émotionnelles trop intenses vont induire à la fois des perturbations mnésiques telles que des hypermnésies, c'est-à-dire une mémorisation trop forte de certains stimuli, et des amnésies, c'est-à-dire des oublis de certaines composantes importantes du souvenir traumatique.

### 2.1. Hypermnésie dans le TSPT

L'hypermnésie est une mémoire excessive, qui est considérée comme pathologique quand les sujets développent une exaltation de souvenirs épisodiques, comme dans le cas du TSPT. Pendant le déroulement d'un événement particulier, certains stimuli attirent plus l'attention que les autres. Ces éléments dits saillants pour l'individu, et ainsi associés au souvenir épisodique, peuvent être de différentes modalités sensorielles. En situation naturelle, l'olfaction est la modalité sensorielle la plus efficace pour induire le rappel de souvenirs autobiographiques (odeur d'un souvenir d'enfance), notamment de souvenirs anciens (Chu and Downes, 2002) et pour induire de fortes émotions (Herz and Schooler, 2002). D'autres modalités sensorielles, telles que la vision ou l'audition sont également des modalités efficaces permettant le rappel de certains souvenirs. Certaines études démontrent que lors d'un conditionnement de type son-choc, le stimulus conditionnel est plus saillant

que le contexte dans lequel le conditionnement est effectué : c'est la valeur prédictive du stimulus qui détermine la force de l'association entre le stimulus et le souvenir stressant (Desmedt et al., 1998; Calandreau et al., 2006). Chez les patients TSPT, le fonctionnement mnésique est perturbé avec une hypermnésie pour les éléments saillants, associée à une réactivité physiologique importante en réponse à l'exposition à ces éléments (DSM-5). Les éléments saillants sur lesquels se focalisent les sujets lors d'un traumatisme sont représentatifs du danger, et sont associés une peur intense et incontrôlée (Foa et al., 1992). Par exemple, une odeur de diesel pour des militaires ou une odeur vestimentaire (comme l'odeur de cuir) pour des victimes de viol est fréquemment décrite comme souvenir fort de l'épisode traumatique (Vermetten and Bremner, 2003; Hinton et al., 2004; Vermetten et al., 2007). De même, certains sons peuvent acquérir une saillance très importante chez des individus TSPT, comme des bruits de pales d'hélicoptère pour des anciens militaires (Orr et al., 1995). Cette hypermnésie est alors responsable de différents symptômes caractéristiques du TSPT, comme les symptômes d'intrusions. Ces souvenirs répétitifs et envahissants de l'événement provoquent le même sentiment de détresse que l'événement traumatique lui-même, qui est revécu pendant les phases d'éveil (reviviscences/flash-back) ou de sommeil (cauchemars). Ces symptômes d'intrusion avec de fortes teneur émotionnelles sont provoqués par des informations présentes dans l'environnement qui ont une certaine ressemblance avec les informations présentes au moment du traumatisme. Cette hypersensibilité à des indices environnementaux, qui conduit aux reviviscences, est responsable du repliement sur soi et du retrait social, et constitue donc un symptôme majeur des TSPT.

D'autres problèmes liés à cette hypermnésie sont également caractéristiques de la pathologie : les patients TSPT ont souvent des réactions de peur à des stimuli associés ou proches de ceux du traumatisme. Elles peuvent être déclenchées par des stimuli assez différents de ceux du traumatisme initial si ces stimuli présentent quelques ressemblances avec les indices associés au traumatisme (Craske et al., 2008). Cette réactivité à des stimuli proches de ceux du traumatisme initial chez des patients TSPT s'explique alors par une sur-généralisation des réponses de peur (Jovanovic et al., 2009; Parsons and Ressler, 2013; Dunsmoor and Paz, 2015). Lorsque certains éléments d'une situation sécurisée sont assimilés de façon erronée à des éléments de l'épisode traumatique, la généralisation pourrait contribuer à éviter ces éléments et participer ainsi au maintien du trouble des

stress post traumatique (Dunsmoor and Paz, 2015). D'autre part, les patients TSPT ont des difficultés à éteindre ces réactions de peur (Ehlers et al., 2004), ce qui pourrait s'expliquer par cette généralisation (Pitman, 1989; Ehlers et al., 2004). Ces déficits d'extinction de peur se retrouvent chez les patients TSPT soumis à des conditionnements de peur qui vont continuer de réagir fortement à la présentation des stimuli conditionnels alors qu'ils n'engendrent plus de conséquences néfastes (Lissek et al., 2005). Chez l'animal, des déficits d'extinction se retrouvent également dans des modèles animaux de TSPT exposés à des conditionnements de peur (Milad et al., 2006, voir section A-I.5.1). Cette caractéristique ne permettant pas d'éteindre efficacement ces peurs incontrôlées, contribue elle aussi au maintien du trouble.

## 2.2. Amnésie dans le TSPT

Parallèlement à l'hypermnésie, des amnésies dissociatives sont également observées chez les patients TSPT. Ces amnésies, de type rétrograde, correspondent à des déficits du rappel de l'événement, conduisant à une incapacité à évoquer certains éléments du souvenir traumatique. L'analyse des rappels intentionnels de patients révèle en effet que le souvenir du traumatisme est souvent fragmenté et désorganisé dans sa chronologie (Ehlers and Clark, 2000; Halligan et al., 2003; Kleim et al., 2008). Une amnésie portant sur les éléments du contexte péri-traumatique est généralement constatée (Layton et al., 2002) : il est impossible pour les patients TSPT de se rappeler certains détails périphériques (lieu, heure, durée) de l'événement traumatique qu'ils ont pourtant subi de façon consciente (Brewin, 2011; Desmedt et al., 2015). Ces phénomènes d'amnésie dissociative (totale ou partielle) ont été clairement mis en évidence chez les femmes victimes d'abus sexuels, qui n'étaient plus capables de se rappeler de certains moments de la scène (Perkins, 2015). Les abus pendant l'enfance, et plus particulièrement les abus chroniques, sont souvent associés à un fort taux d'amnésie dissociative (Chu et al., 1999). D'après Walker et collaborateurs (1994), cette amnésie dissociative serait un mécanisme inconscient de protection, qui aurait pour but de protéger à court terme l'individu de la sévérité de la réalité traumatique et de l'impact de celle-ci sur son esprit. Cette amnésie empêcherait aussi l'intégration complète et adaptée des souvenirs de l'événement traumatique en mémoire, avec une incapacité de verbalisation autour de celui-ci empêchant de le replacer dans son contexte (Ehlers and Clark, 2000).



### 2.3. Paradoxe mnésique

Bien que dans le TSPT on retrouve aussi des troubles de la mémoire déclarative non liés à l'événement traumatique, généralement associés à des problèmes cognitifs (Etkin and Wager, 2007), ainsi que des biais mnésiques favorisant la mémorisation des informations négatives (Isaac et al., 2006), la coexistence d'une hypermnésie et d'une amnésie des souvenirs traumatiques représente pour certains auteurs le problème mnésique majeur du TSPT. On retrouve en effet d'une part une sur-mémorisation de certains stimuli associés à l'événement traumatique et présentant une charge émotionnelle intense, qui s'exprime par des reviviscences et des cauchemars (Dégeilh et al., 2013), et d'autre part une amnésie déclarative pour les informations contextuelles du trauma, qui s'exprime par une incapacité à se rappeler de façon consciente des détails périphériques de l'évènement traumatique (pour revue Brewin, 2011; Desmedt et al., 2015). Il semble que l'expérience du vécu traumatique impacte directement, c'est-à-dire au moment de l'encodage, les structures impliquées dans la mémorisation (Ehlers and Clark, 2000; Brewin, 2014), ce qui pourrait expliquer ce profil paradoxal. On sait que les troubles de la mémoire déclarative sont plutôt associés à l'hippocampe et au cortex préfrontal, et alors que les troubles des apprentissages associatifs émotionnels sont plutôt dépendants de l'amygdale (Phelps and LeDoux, 2005; Kaouane, 2010; Decam, 2012). De plus, les recherches sur les primates non humains suggèrent que l'exposition prolongée aux glucocorticoïdes endommage l'hippocampe (Sapolsky et al., 1990). Or le stress a pour effet d'augmenter la libération, entre autre, de glucocorticoïdes (voir chap. suivant, A.II.3.2), qui associée à l'hyperglutamatergie présente chez les personnes exposées à un stress traumatique contribuerait à une dégénérescence hippocampique (neurotoxicité ; Chambers et al., 1999; Kaouane, 2010). Cette altération d'encodage entrainerait ainsi des difficultés pour récupérer les souvenirs de manière consciente et volontaire. De plus, des études sur l'animal suggèrent que l'excès de glucocorticoïdes dans l'hippocampe contribue à une sélection inadaptée des stimuli saillants en condition aversives (Kaouane et al., 2012). A côté de cela, le stress agit également sur l'amygdale en favorisant son activité, ce qui a pour conséquence d'améliorer les performances mnésiques pour les informations fortement émotionnelle (Cahill et al., 2003; Roozendaal et al., 2009), entrainant une sur-consolidation du souvenir traumatique (Pitman et al., 2012). Cela conduirait alors à un fonctionnement mnésique lié au système émotionnel et dépendant des phénomènes d'indigage (Desmedt et al., 2015). Ainsi, le profil paradoxal

d'hypermnésie/amnésie dans le TSPT due à une intensité de stress est trop importante, résulterait de l'hyperactivation de l'amygdale qui aurait pour conséquence d'une part d'augmenter l'inhibition induite sur l'hippocampe empêchant la consolidation des informations du système déclaratif (Layton et al., 2002), et d'autre part de consolider les souvenirs hautement émotionnels, susceptible d'échapper au contrôle de l'individu (voir tableau 3).

Régions cérébrales	Systèmes et processus cognitifs	Troubles de mémoire dans le TSPT
Hippocampe	Mémoire épisodique Encodage et rappel du contexte	Déficit de mémoire épisodique Fragmentation du souvenir Décontextualisation du souvenir Sur-généralisation des souvenirs
Amygdale	Mémoire émotionnelle Détection de la menace Réponse de peur	Hypermnésie des aspects émotionnels négatifs Biais attentionnel en faveur de la menace

***Tableau 3 : Troubles mnésiques associés à l'hippocampe et l'amygdale dans le TSPT***

### 3. Neurobiologie du TSPT

Bien que les études d'imagerie chez l'homme aient permis d'obtenir un certain nombre de données neurobiologiques sur les conséquences d'un stress traumatique, l'utilisation de modèles animaux reste indispensable afin de comprendre les modifications cérébrales complexes qui interviennent dans de telles conditions. Nous allons donc décrire rapidement ces modèles animaux avant de revenir sur leurs apports dans nos connaissances sur les modifications neurobiologiques du TSPT.

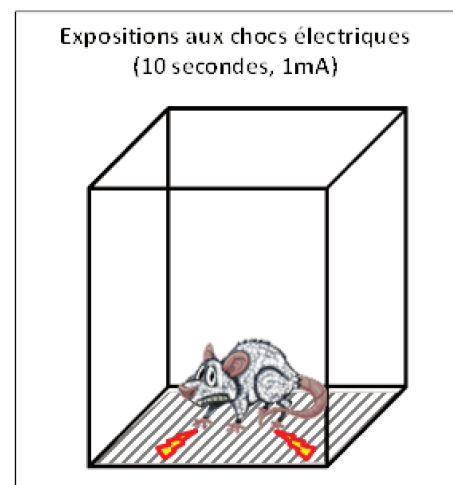
#### 3.1. Modèles animaux

L'intérêt de l'utilisation d'animaux dans les expérimentations scientifiques est de pouvoir comprendre des fonctions biologiques difficiles à étudier directement chez l'homme. Dans le TSPT, les processus à l'origine de la pathologie sont encore peu connus et mal compris, c'est pourquoi l'utilisation de modèles animaux est primordiale. Toutefois, il reste indispensable de respecter les normes de « bien-être animal » recommandées par les comités d'éthique, afin de limiter le nombre et la souffrance des animaux. Des études longitudinales peuvent permettre de mieux comprendre le développement de la pathologie, mais également d'étudier les facteurs de prédisposition, chose impossible chez l'homme

sachant le caractère imprévisible des événements traumatisants. Les modèles ont aussi et surtout un rôle de premier ordre dans la recherche de nouvelles voies thérapeutiques, connaissant les faibles taux de guérison dans le TSPT, et les forts taux de rechutes après traitement. Les modèles animaux permettant de modéliser le trouble de stress post traumatique utilisent principalement des rongeurs, et nécessitent l'exposition à un stress intense, qui peut s'effectuer différemment.

### 3.1.1. L'exposition aux chocs électriques

Le modèle le plus simple consiste à délivrer des chocs électriques : les rongeurs sont placés dans une boîte avec une grille au sol qui permet d'appliquer des chocs électrique, auxquels l'animal ne peut échapper. Ce modèle est généralement utilisé pour induire une peur conditionnée classique, en couplant un stimulus neutre (par exemple un son) avec le choc électrique (stimulus conditionnel). Un autre indice pouvant être utilisé dans ce modèle est le contexte dans lequel le choc a été délivré (la boîte, la texture des murs, etc.). La réexposition ultérieure au son ou au contexte initial permettra ainsi de vérifier la présence des réponses de peur.



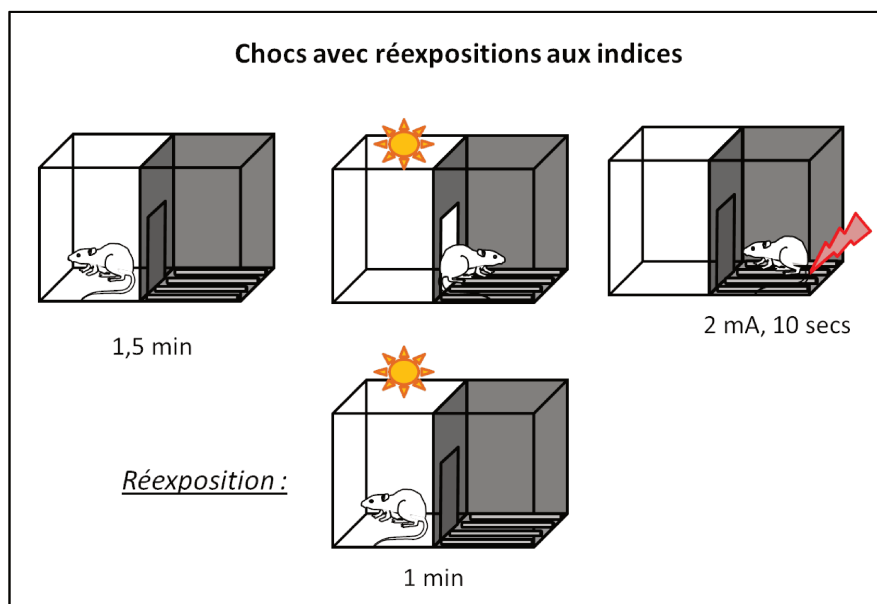
**Figure 5 : Modèle d'exposition aux chocs électriques**

Ce modèle qui permet de modéliser l'effet d'un stress fort, est surtout utilisé pour étudier les bases neurobiologiques des conditionnements de peur (Johnson et al., 2012). La variété des protocoles utilisés dans ce modèle (nombre de chocs, intensités, durée) ne permet pas d'avoir un modèle standardisé de trouble de stress post traumatique. Ce modèle n'est d'ailleurs pas spécifique du TSPT puisqu'il est également utilisé comme modèle de dépression (Maier and Seligman, 1976). Enfin, ce modèle ne permet pas de mettre en évidence la vulnérabilité au traumatisme, car les réactions de peur sont présentes sur la totalité du groupe exposé.

### 3.1.2. Chocs avec réexpositions aux indices

Un autre modèle basé sur les chocs électrique a été mis en place (Pynoos et al., 1996). Il correspond à un conditionnement d'évitement passif, réalisé dans une boîte à deux compartiments. L'animal est placé dans le 1<sup>er</sup> compartiment très éclairé et muni de parois blanches. Dès que l'animal entre dans le second compartiment sombre, il reçoit un choc

électrique. L'animal est ensuite réexposé plusieurs fois au compartiment « sauf », qui est associé à la délivrance consécutive du choc (une fois par semaine pendant 3 à 4 semaines). Ces réexpositions permettent de reproduire les situations qui arrivent chez l'homme, à savoir de se retrouver dans une situation prédictive de l'événement, sans forcément que le traumatisme ne se reproduise.



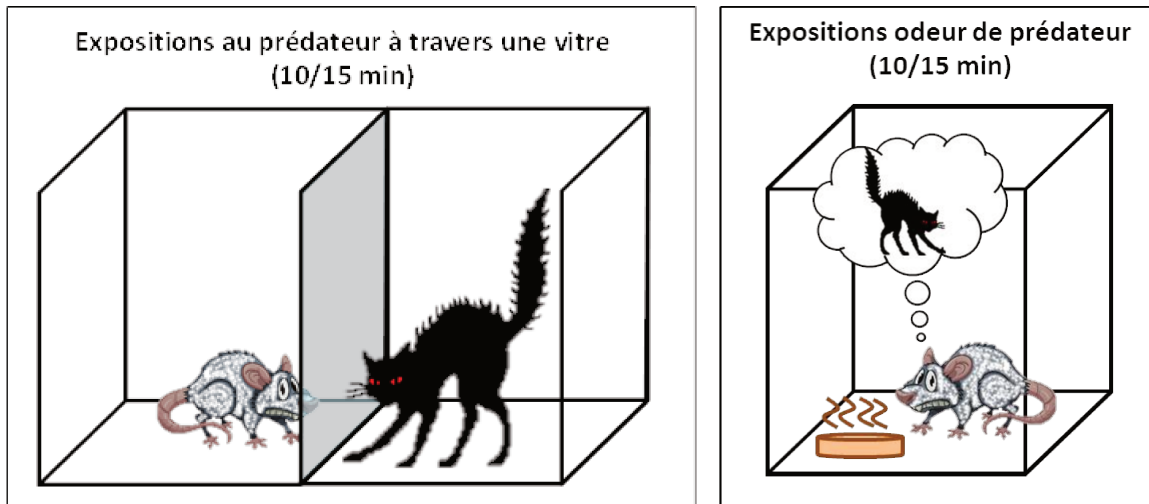
**Figure 6 : Modèle de chocs électriques avec réexpositions aux indices**

La vulnérabilité au traumatisme a été étudiée dans ce modèle : il a été montré que certains des effets induit par ce stress sont restreint à une partie de la population, celle montrant une plus forte différence de sursaut entre avant et après le stress traumatique (Olson et al., 2011).

### **3.1.3. L'exposition au prédateur / odeur de prédateur**

Le modèle de l'exposition au prédateur est un modèle où l'animal (par exemple un rat) est exposé à un son prédateur naturel (par exemple un chat) ou à l'odeur de ce prédateur (litière, fourrure ou urine) dans un environnement où l'animal ne peut s'échapper.

Bien que ce modèle soit le plus éthologique par rapport à un traumatisme chez le rongeur, l'application de ce traumatisme pose quelques problèmes. En effet, pour l'exposition à l'odeur de prédateur, cela peut passer par l'utilisation d'un collier ou tissu accolé à la fourrure de l'animal, ou à une litière souillée. La « quantité » et la qualité de l'odeur ne sont donc jamais exactement équivalentes entre les expériences.



**Figure 7 : Modèle d'exposition prédateur ou odeur de prédateur**

De plus, l'exposition directe au prédateur n'est pas toujours efficace, étant donné que certains chats ne provoquent pas de réaction de peur (Muñoz-Abellán et al., 2010). Ce modèle n'est donc pas standardisé. De plus, il est également utilisé pour modéliser d'autres pathologies comme les phobies, la dépression ou l'anxiété généralisée (Staples, 2010). Le stress engendré dans ces conditions repose sur les peurs naturelles et des réponses innées des animaux, et non sur l'expérience traumatique en elle-même, responsable de processus différents de ceux du TSPT. Toutefois, la vulnérabilité au traumatisme a été abordée dans ce modèle par Cohen et collaborateurs (Cohen and Zohar, 2004; Cohen et al., 2011), avec un taux de 22% d'animaux présentant des symptômes de type TSPT, en utilisant un test d'anxiété et de sursaut.

#### **3.1.4. Traumatisme par immersion ou « Under Water Trauma »**

Le traumatisme par immersion est induit en plaçant l'animal dans une petite cage qui sera immergée dans un cylindre rempli d'eau pendant 30 à 45 secondes. Les quelques études sur ce modèle indiquent la présence de certains symptômes de type TSPT, qui semble restreinte à une partie de la population, sélectionnée par critère sur les tests comportementaux (19-24%, Ardi et al., 2014, 2016). Les premières données sur ce modèle animal semblent prometteuses, cependant utilisé par une seule équipe, ce modèle n'est pas suffisant à l'heure actuelle pour remplir une majorité de critère de modélisation du TSPT.

### 3.1.5. Stress de défaite sociale



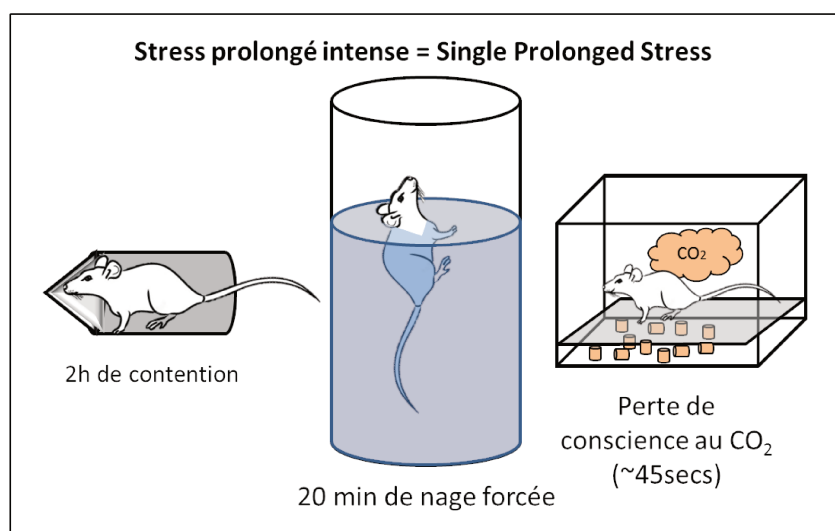
**Figure 8 : Modèle de défaite sociale**

Ce stress traumatique est basé sur l'exposition répétée de l'animal à un congénère agressif et dominant. L'animal subit des attaques impliquant des défaites sociales répétées de la part de « l'agresseur ».

Ce modèle animal remplit de nombreux critères du TSPT. Cependant, il s'agit d'une exposition chronique, dont les mécanismes semblent être différents d'une simple exposition aiguë. A notre connaissance, il n'y a pas d'étude montrant une vulnérabilité différentielle à ce stress.

### 3.1.6. Le Single Prolonged Stress (SPS)

Le Single Prolonged Stress (SPS) est un modèle animal du TSPT dont le protocole a été mis au point par Liberzon et collaborateurs (Liberzon et al., 1997), qui comporte trois épisodes traumatiques délivrés successivement. Les animaux sont d'abord soumis à un stress de contention pendant deux heures, suivi d'une nage forcée de 20 min. Après une période de récupération de 15 min, les animaux sont exposés à des vapeurs d'éther ou de dioxyde de carbone jusqu'à la perte de conscience. La vulnérabilité au traumatisme dans ce modèle animal n'a pour l'instant été abordée que par notre équipe avec un taux de 30% d'animaux vulnérables (Toledano and Gisquet-Verrier, 2014).



**Figure 9 : Modèle du Single Prolonged Stress**

Ce modèle est très standardisé, contrairement aux autres modèles où des variations dans le protocole peuvent faire varier les résultats et est utilisé par de nombreuses équipes. Il est ainsi facile à mettre en place et permet des comparaisons avec d'autres études préalablement effectuées.

### 3.1.7. Symptômes obtenus dans les modèles animaux

Ces différents modèles animaux permettent de reproduire un certain nombre de symptômes de type TSPT, que ce soit des réponses de peur intense induites par un indice lié au stress (Kaouane et al., 2012; Toledano and Gisquet-Verrier, 2014; Bennett et al., 2016), une augmentation d'anxiété (Bruijnzeel et al., 2001; Imanaka et al., 2006; Louvart et al., 2006; Wang et al., 2008; Neumann et al., 2011; Ganon-Elazar and Akirav, 2012; Corral-Frias et al., 2013; Serova et al., 2013; Korem and Akirav, 2014; Hammels et al., 2015; Bennett et al., 2016), une augmentation du sursaut relatif à une hypervigilance (Serviatius et al., 1995; Khan and Liberzon, 2004; Kohda et al., 2007; Olson et al., 2011; Serova et al., 2013; Korem and Akirav, 2014), une anhédonie (Philbert et al., 2011; Enman et al., 2015; Hammels et al., 2015), des troubles du sommeil (Philbert et al., 2011; Hammels et al., 2015; Nedelcovych et al., 2015; Vanderheyden et al., 2015), un évitement d'indices (Louvart et al., 2006; Philbert et al., 2011; Corral-Frias et al., 2013; Korem and Akirav, 2014), une agressivité (Louvart et al., 2005; Olson et al., 2011), et une diminution des interactions sociales (Louvart et al., 2005; Olson et al., 2011). Les effets décrits en fonction du modèle sont repris dans le tableau 4.

validité	Éthio- logique	De représentation										
		A	B	C	D1	D2	E1	E2	E3	E4	F	G
critères	Expo trauma	Reac. indice	Evite- ment	anxiété	Anhé- donie	agressif	Vigilan- ce	Défaut cogni- tion	Trouble sommeil	Maintien long terme	Repli social	Pas de prise substance
Choc électriques	X	X	X	X	X		X		X	X	X	X
Chocs et réexpositions	X		X	X		X	X			X	X	X
Prédateur (PSS)	X	X	X	X	X	X	X			X	X	X
Trauma sous l'eau (UWT)	X	X		X			X	X		X	X	X
Stress de défaite sociale	X		X	X	X			X		X	X	X
Stress prolongé intense (SPS)	X	X	X	X	X		X	X	X	X	X	X

**Tableau 4 : Résumé des critères de validité selon les différents modèles animaux d'ESPT**

On remarque ainsi que le modèle du SPS permet d'obtenir le plus grand nombre de symptômes de type TSPT, suggérant qu'il est le meilleur modèle actuellement disponible pour étudier cette pathologie.

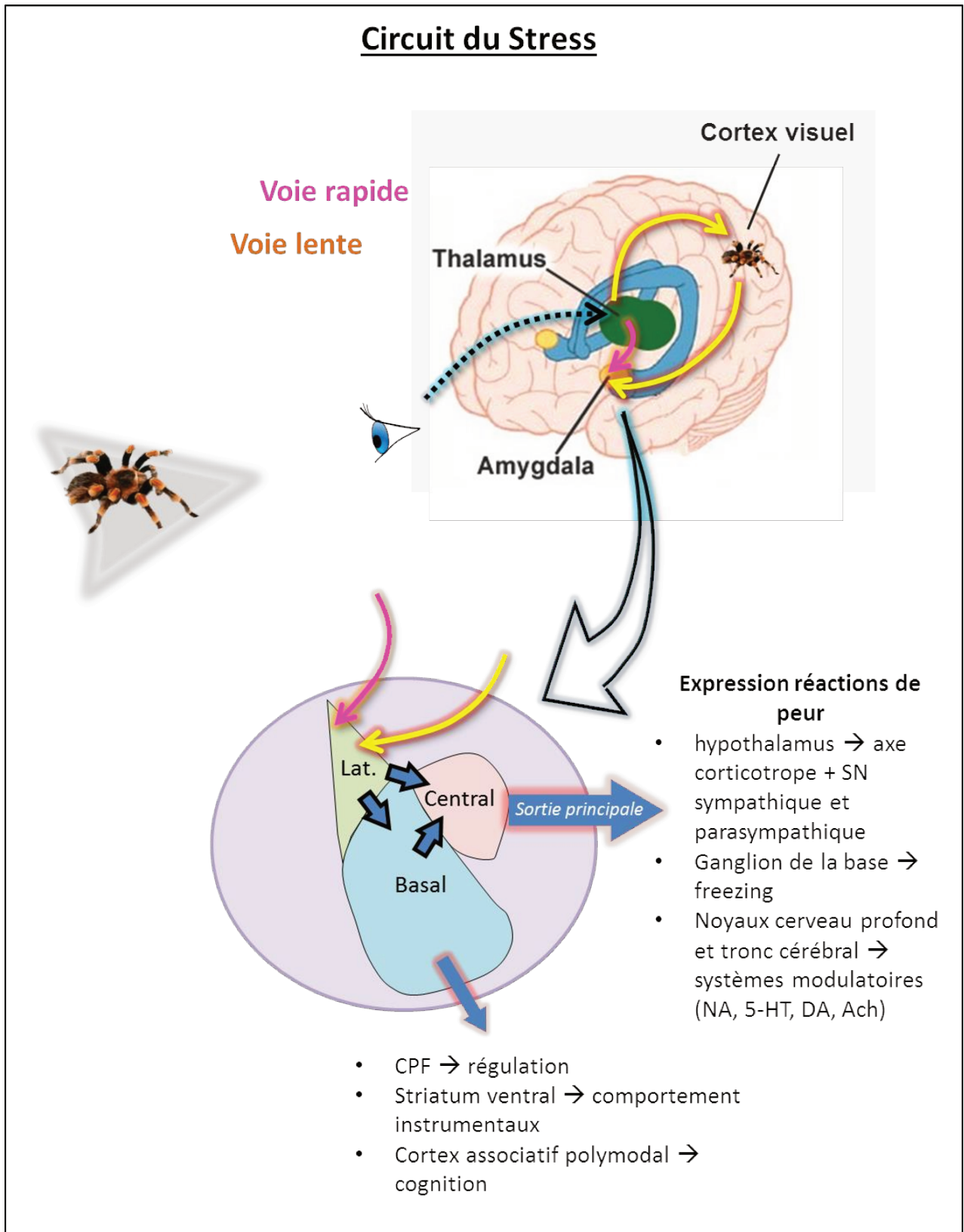
### 3.2. Stress normal

Le stress est pour la première fois décrit en 1935 comme une réaction de l'organisme en réponse à un stimulus menaçant, visant à retrouver son homéostasie (Cannon, 1935). Aujourd'hui encore, le stress se définit comme la réponse de l'organisme à un stimulus déclencheur, mais s'utilise souvent pour désigner le stimulus lui-même (Koolhaas et al., 2011). Le stress apparaît chez des individus dont les ressources et stratégies sont dépassées par les exigences de la situation (OMS), qui peut devenir pathologique en cas de prolongation, répétition, ou d'intensité trop importante. Il existe différents types de stress : le stress physique et le stress psychologique. Un stress physique repose sur une menace physique réelle, alors qu'un stress psychologique est conditionné par la perception de la menace et de son interprétation. Par exemple, chez l'animal, un stress physique peut être induit par des chocs électriques, alors qu'un stress psychologique peut être induit par une contention, l'exposition à une odeur de prédateur, ou à un stimulus prédictif d'un choc.

En réponse à un stress, l'organisme va mettre en place un système de compensation appelé le syndrome général d'adaptation (Selye, 1973). Une phase d'alarme va tout d'abord permettre à l'organisme de mobiliser les ressources nécessaires pour pouvoir lutter ou fuir face à la menace (Cannon, 1915). Ensuite vient une phase de résistance où l'organisme va tenter de rétablir l'équilibre. Enfin, en cas de stress prolongé, l'organisme va s'épuiser ce qui peut conduire à un stress pathologique. Dans la phase d'initiation à la réponse de stress, l'information visuelle correspond à une menace ou un stimulus stressant va envoyer cette information au thalamus. Cette information peut alors suivre une voie rapide allant directement à l'amygdale, ou passer par une voie lente, faisant un relai dans le cortex visuel, permettant un traitement cognitif des informations sensorielles, avant d'être envoyé à l'amygdale. Cette dernière structure va alors être responsable des réactions physiologiques de peur relayées principalement via le noyau central (voir figure 10). Ces réactions de peur s'expriment par des réponses comportementales, endocriniennes et du système nerveux autonome. Les projections vers l'hypothalamus vont diriger l'activation de l'axe corticotrope et du système nerveux sympathique et parasympathique, celles vers les ganglions de la base sont responsables des comportements d'immobilisation, et enfin, celles vers les noyaux profonds et le tronc cérébral induisent les libérations de neurotransmetteurs avec en particulier les différentes monoamines (Rodrigues et al., 2009).



## Circuit du Stress



**Figure 10 : Schéma du circuit du stress : Initiation d'une réponse de stress et rôle de l'amygdale dans les réponses associées**

*L'information de la vision d'une menace va être intégrée au niveau thalamique, avant d'être amenée au niveau de l'amygdale, qui va par la suite enclencher les différentes réponses de stress via le noyau central ou basal.*

### 3.3. Stress pathologique (TSPT)

#### 3.3.1. Modifications structurales et fonctionnelles

L'utilisation des techniques de neuro-imagerie a permis d'apporter des informations importantes et pertinentes concernant les substrats cérébraux sous-jacents à la symptomatologie du TSPT. Ces études montrent que les modifications cérébrales anatomiques et fonctionnelles liées au traumatisme impliquent principalement l'hippocampe, l'amygdale, le cortex préfrontal (CPF) et le cortex cingulaire antérieur (CCA).

#### L'hippocampe

L'hippocampe est une structure située au cœur du lobe temporal médian. Il joue un rôle essentiel dans l'encodage et le rappel des souvenirs épisodiques et dans la mémorisation des aspects contextuels spatiaux et temporels des souvenirs (Squire et al., 2004). Depuis qu'il a été rapporté une diminution bilatérale du volume hippocampique chez des vétérans atteints de TPST (Bremner et al., 1995), cette structure a été l'intérêt de nombreuses études en relation avec cette pathologie. Il en ressort que l'atrophie de l'hippocampe est assez systématique chez les patients TSPT (Pitman et al., 2012), et la diminution du volume hippocampique semble être corrélée avec la sévérité du TSPT (Bremner et al., 1995; Winter and Irle, 2004). Cependant comme nous l'avons vu précédemment, cette caractéristique pourrait être autant un facteur de risque qu'une conséquence du trouble. Les données provenant des modèles animaux confirment ces observations avec une diminution de prolifération cellulaire (Hammels et al., 2015), ainsi qu'une augmentation de l'apoptose neuronale dans cette structure se produisant après un traumatisme (Li et al., 2010, 2013). En ce qui concerne les altérations fonctionnelles liées au TSPT, les études ne montrent aucun consensus, certains trouvant une hypoactivation de l'hippocampe chez les patients, d'autres montrant une hyperactivation et encore d'autres ne détectant aucune différence d'activation par rapport aux sujets de contrôle (Pitman et al., 2012). Chez l'animal, des diminutions d'activité neuronale (dans le Gyrus Denté et le CA1) ont été observées (Kaouane et al., 2012).

#### L'amygdale

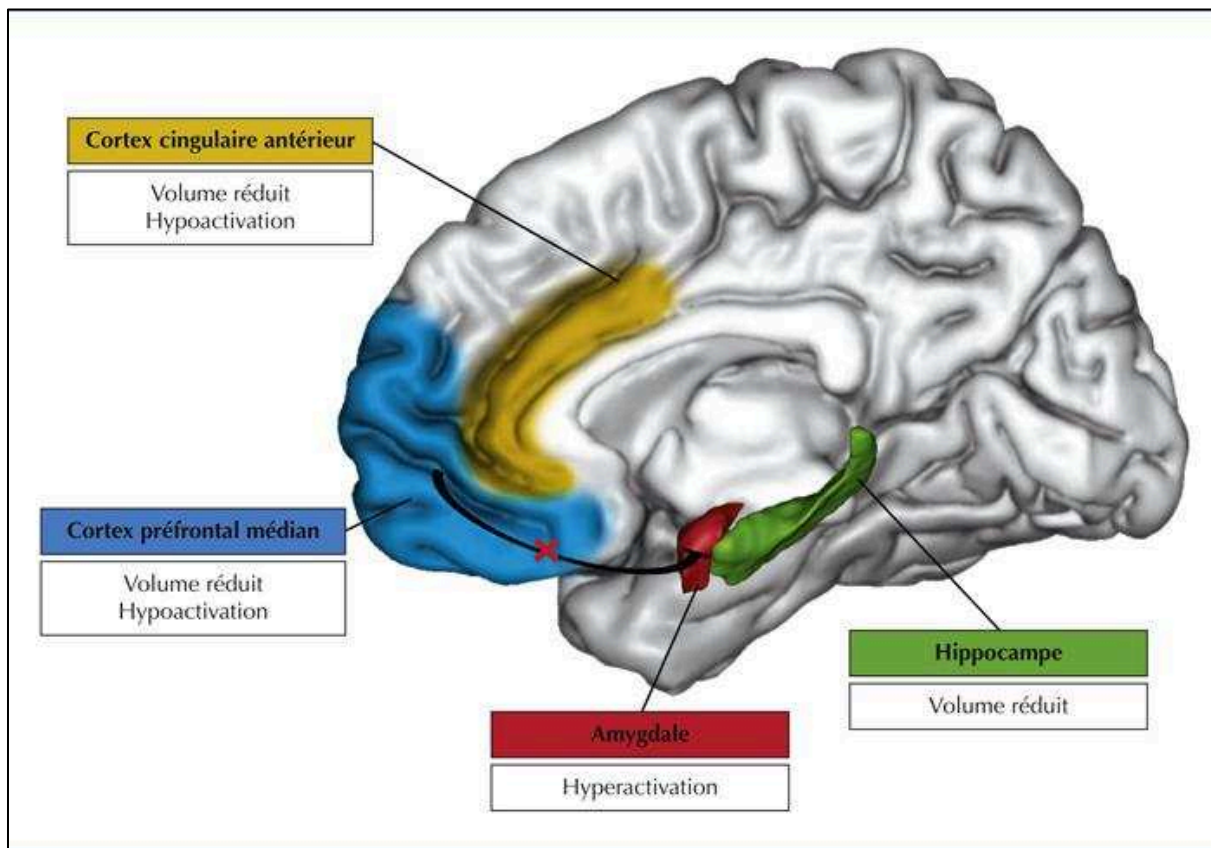
L'amygdale qui fait partie du système limbique, a un rôle déterminant dans la détection de menace, les réponses de peur et dans la mémoire émotionnelle (Phelps and

LeDoux, 2005). Cette structure est essentielle dans les conditionnements de peur, l'extinction et la généralisation de la peur (LaBar et al., 1998). Elle intervient dans la régulation du stress en activant l'axe corticotrope. Alors qu'on ne retrouve pas de corrélats au niveau anatomique, des études sur les patients TSPT révèlent la présence d'une hyperréactivité de l'amygdale à l'état de repos, en l'absence de stimulation cognitive (Pitman et al., 2012), ainsi que lors de rappels de souvenirs traumatiques (Shin et al., 2004). Ces résultats se retrouvent également chez l'animal avec des augmentations d'activité neuronale de cette structure (hémisphère droit et noyau central ; Olson et al., 2011; Kaouane et al., 2012)

### **Le cortex préfrontal médian (CPF) et le cortex cingulaire antérieur (CCA)**

Le CPF médian et le CCA sont situés dans la partie antérieure du lobe frontal. Ces structures ont un rôle central dans la régulation émotionnelle et la modulation attentionnelle (Etkin et al., 2011). En condition normale, elles exercent toutes deux une inhibition de l'amygdale (Ochsner and Gross, 2005), jouant ainsi un rôle dans l'intégration des émotions dans des tâches cognitives et dans la mémoire émotionnelle. Au niveau structural, on retrouve chez les patients TSPT une diminution du volume de ces deux structures, corrélée avec la sévérité des symptômes en général pour le CCA, et plus particulièrement avec l'hypervigilance pour le CPF (Weber et al., 2013). Cette diminution volumique pourrait être due à une augmentation de l'apoptose neuronale dans le CPF, comme l'indique une étude chez l'animal (Li et al., 2010, 2013). Une étude sur des jumeaux monozygotes indique que des patients TSPT ont bien une atrophie du CCA, comparés à leur jumeau non exposé, suggérant que cette modification soit une conséquence et non au cause du TSPT (Kasai et al., 2008). Fonctionnellement, on note une diminution de l'activité du CCA et du CPF (Bremner et al., 1999), notamment en cas d'évocation du traumatisme (Shin et al., 2004). L'activité du CPF médian a été corrélée négativement avec l'activité de l'amygdale, suggérant une diminution de l'inhibition qu'exerce le CPF sur l'amygdale chez des patients TSPT (Shin et al., 2005).

Pour résumer, les anomalies structurales observées sont schématisées en figure 11, et leurs conséquences possibles dans le TSPT sont présentés dans le tableau 5.



**Figure 11 : Altérations cérébrales fonctionnelles et anatomiques liées à l'état de stress post-traumatique (TSPT) chez l'adulte. d'après (Dégeilh et al., 2013)**

<b><u>Structure</u></b>	<b><u>Anomalies observées</u></b>	<b><u>Conséquences possibles</u></b>
<b>Hippocampe</b>	Diminution de volume	- Altération du traitement de la mémoire contextuelle - Altération de l'extinction
<b>Amygdale</b>	Augmentation d'activité	- Détresse émotionnelle - Hypervigilance - Augmentation conditionnement de peur
<b>Cortex préfrontal médian</b>	Diminution de volume	- Augmentation des réponses émotionnelles - Altération de l'extinction
<b>Cortex cingulaire antérieur</b>	Diminution de volume	- Augmentation des réponses émotionnelles - Altération de l'extinction

**Tableau 5 : anomalies neurobiologiques présentes dans le TSPT et leurs conséquences possibles (repris de Decam, 2012)**

### **3.3.2. Modifications de la neurotransmission**

#### **Noradrénaline**

La noradrénaline (NA) est une monoamine faisant partie de la classe des catécholamines, qui a un rôle hormonal sur le système nerveux végétatif, par sa synthèse au niveau de la médullosurrénale, et un rôle de neurotransmetteur au niveau du système nerveux central où elle est majoritairement synthétisée au niveau du locus cœruleus (LC). La noradrénaline a de nombreux rôles, notamment sur l'apprentissage, la mémoire, la prise de décision, mais aussi sur la réponse au stress, l'hypervigilance, ou bien même dans l'anxiété, avec un rôle majeur dans le TSPT.

On observe une augmentation de l'activité du système noradrénergique récurrente chez des patients TSPT (Jedema and Grace, 2003), tant au niveau périphérique que central. Des augmentations de NA urinaire ont été rapportées chez des vétérans avec TSPT (Yehuda et al., 1992; Wingenfeld et al., 2015). Des modifications de NA plasmatique, et des augmentations des taux de NA dans le liquide céphalo-rachidien, en corrélation avec la sévérité des symptômes ont également été notées (Hendrickson and Raskind, 2016). De plus, chez les patients TSPT, la disponibilité du transporteur de la noradrénaline (NERT) est réduite, avec une diminution de sa densité au niveau du locus cœruleus (Pietrzak et al., 2013), conduisant à une augmentation de NA dans cette structure qui serait à l'origine des symptômes d'hypervigilance. Les études sur l'animal indiquent des effets similaires sur la neurotransmission noradrénergique, avec une augmentation de l'activité du LC (Olson et al., 2011), et des augmentations de NA après un stress chronique de défaite sociale ou exposition au SPS (Harvey et al., 2006; Hammels et al., 2015).

#### **Sérotonine**

La sérotonine ou 5-hydroxytryptamine (5-HT) est une monoamine qui dérive du tryptophane, et dont la principale source est le noyau du raphé. Le système sérotoninergique a un rôle dans le sommeil, l'agressivité, les états émotionnels (Lucki, 1998; Dugovic, 2001; Popova, 2008). Elle est également impliquée dans la régulation du stress et de l'anxiété (Chaouloff, 2000; Harvey et al., 2004a).

Le stress a pour effet d'augmenter la libération de sérotonine, via l'augmentation de l'activité des noyaux du raphé (pour revue Krystal and Neumeister, 2009). Cependant les études concernant ce neurotransmetteur dans le TSPT sont relativement peu nombreuses. Elles révèlent que la recapture de sérotonine dans les plaquettes sanguines est diminuée et

que les sites de liaison du récepteur 5-HT<sub>2</sub> cortical sont augmentés, indiquant des modulations dans la neurotransmission sérotoninergique après un traumatisme (Vermetten and Bremner, 2002). Une autre étude révèle une augmentation des transporteurs SERT dans le cortex, s'accompagnant d'une augmentation de la recapture et donc une diminution des taux corticaux de sérotonine (De Berardis et al., 2008). De même, l'augmentation de l'activité des récepteurs sérotoninergiques 5-HT<sub>1A</sub> (Sullivan et al., 2013) dans différentes structures cérébrales chez des patients souffrant de TSPT a pour effet de diminuer l'activité sérotoninergique, étant donné que les 5-HT<sub>1A</sub> sont des autorécepteurs qui réduisent l'exocytose de la sérotonine. Les données chez l'animal ne sont pas beaucoup plus nombreuses, et révèlent également des altérations du système sérotoninergique. On trouve également des taux de sérotonine plus élevés après un stress chronique de défaite sociale (Hammels et al., 2015) ou une diminution au niveau de l'hippocampe après exposition au SPS (Zhang et al., 2012; Lin et al., 2016). De plus, après exposition à un prédateur, des animaux modifiés génétiquement pour ne plus exprimer le transporteur à la sérotonine (SERT) ayant pour conséquence une élévation des taux de 5-HT extracellulaire, ont un taux de vulnérabilité augmentée par rapport aux animaux sauvages (Adamec et al., 2008).

### **Dopamine, GABA, glutamate, neuropeptide Y**

La dopamine (DA), catécholamine qui dérive de la tyrosine, est principalement sécrétée par l'aire tegmentale ventrale (ATV) ou la substance noire. Chez des patients TSPT, on note une excrétion élevée de dopamine urinaire, qui est corrélée avec la sévérité des symptômes (Yehuda et al., 1992; Young and Breslau, 2004), ainsi qu'une augmentation des niveaux de dopamine plasmatique (Hamner and Diamond, 1993), retrouvée après un stress chronique de défaite sociale chez l'animal ou après exposition au SPS (Harvey et al., 2006; Hammels et al., 2015).

L'acide  $\gamma$ -aminobutyrique souvent abrégé en GABA est un neurotransmetteur, principalement inhibiteur. Dans le TSPT, le GABA a un taux diminué et se fixe moins fortement à ses récepteurs dans le cortex, l'hippocampe et le thalamus (Bremner et al., 2000; Geuze et al., 2008). La réduction du niveau de GABA dans l'hippocampe est d'ailleurs retrouvée chez des animaux SPS (Harvey et al., 2004b).

Bien que de plus en plus d'arguments suggèrent l'implication du système glutamatergique, neurotransmetteur principalement excitateur, dans le TSPT (Riaza Bermudo-Soriano et al., 2012), très peu d'études ont étudié les anomalies de ce système

chez des patients. On rapporte tout de même des augmentations de glutamate dans le plasma sanguin de patients TSPT, qui sont corrélées avec la sévérité des symptômes (Nishi et al., 2015).

Concernant le neuropeptide Y (NPY), un neurotransmetteur peptidique, on note des diminutions de son taux dans le liquide céphalo rachidien chez des patients TSPT qui seraient inversement corrélées avec les symptômes intrusifs (pour revue voir Schmeltzer et al., 2016). Au niveau plasmatique, on note également une diminution des taux (Rasmusson et al., 2000), bien qu'une augmentation ait été rapportée chez des vétérans sans TSPT, ce qui a conduit les auteurs à suggérer un rôle possible de ce neuropeptide dans la résilience (Yehuda et al., 2006).

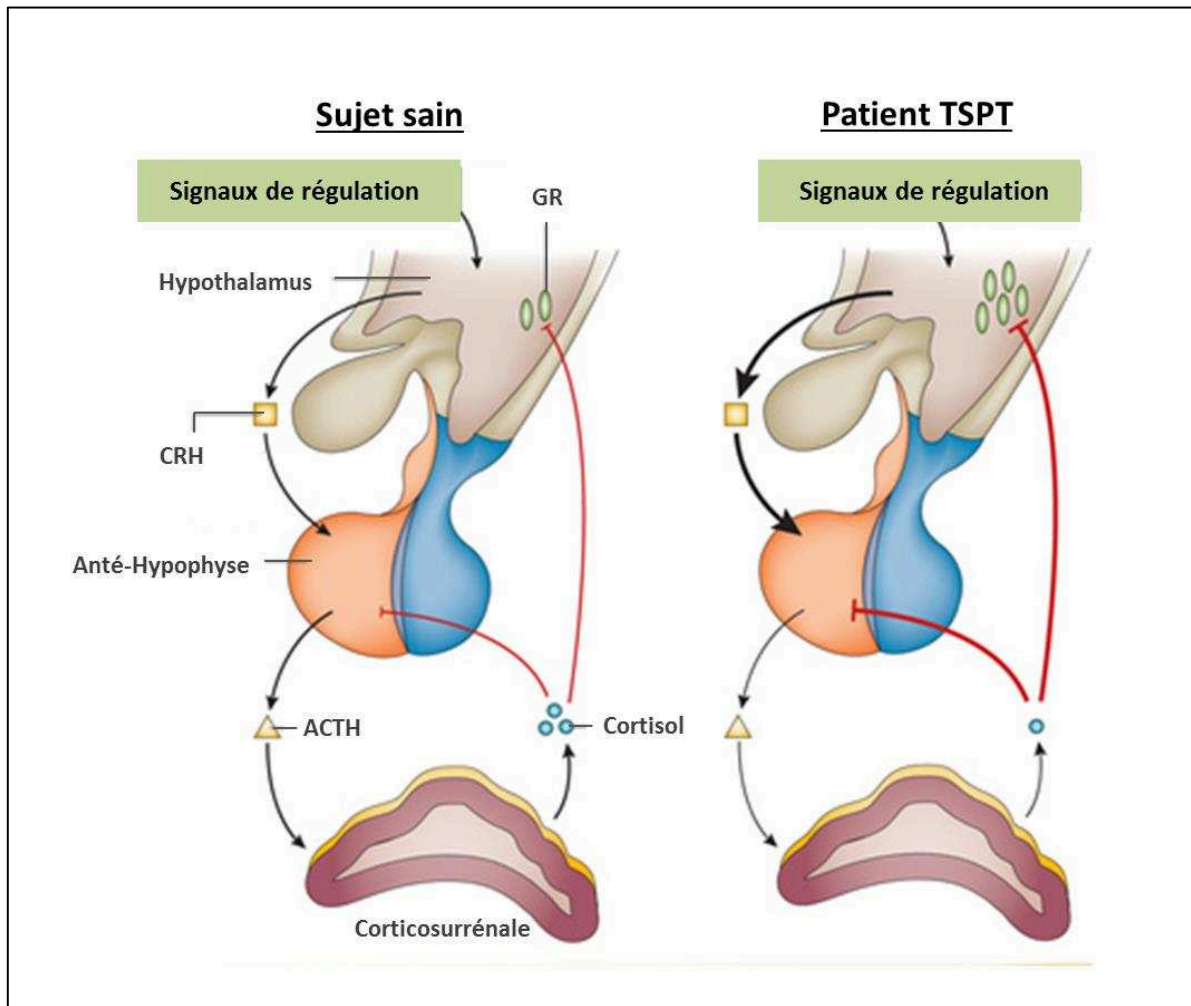
### **3.3.3. Modifications du fonctionnement de l'axe corticotrope**

L'axe corticotrope est constitué de l'hypothalamus, l'hypophyse, et des glandes surrénales. En réponse à un stress, l'hypothalamus libère la corticolibérine (CRH), qui va aller se fixer au niveau de l'hypophyse pour stimuler la libération d'adrénocorticotropine (ACTH). Cette hormone va ensuite agir au niveau des glandes surrénales pour activer la libération de cortisol. Le cortisol va alors jouer un rôle de rétrocontrôle négatif sur l'axe corticotrope en agissant sur les différentes structures de l'axe. Le cortisol ou la corticostérone, glucocorticoïde majoritaire respectivement chez l'homme ou chez le rongeur, agissent sur leurs cellules cibles en se liant à des récepteurs intracellulaires. Ces récepteurs sont de deux types : les récepteurs aux minéralocorticoïdes (MR) et les récepteurs aux glucocorticoïdes (GR). Les MR ont une plus grande affinité pour les glucocorticoïdes, et sont plutôt impliqués dans les réponses basales, alors que les GR, qui ont une plus faible affinité, ont plutôt un rôle dans les activités phasiques comme lors d'un stress (de Kloet et al., 2005).

S'il est clair que le TSPT a pour effet d'induire une hyperactivité de l'axe corticotrope, il n'existe cependant pas de consensus concernant les modifications induites par le TSPT sur les taux de base de cortisol chez les patients TSPT. En effet, si plusieurs études rapportent des taux plus faibles de cortisol urinaire, salivaire et plasmatique (Mason et al., 1986; Yehuda et al., 1990; Kellner et al., 1997), qui seraient inversement corrélés avec la durée d'exposition au traumatisme (Boscarino, 1996), d'autres montrent une absence de différence avec des individus contrôles au niveau basal (pour revue Michopoulos et al., 2016), et d'autres enfin indiquent même des augmentations (Lemieux and Coe, 1995; Carrion et al., 2002; Lindley et al., 2004). Les résultats chez l'animal sont tout autant variés,

avec des études rapportant des augmentations, des diminutions, et parfois aucune modification du taux basal de corticostérone (Viviani et al., 2012; Borghans and Homberg, 2015; Hammels et al., 2015). Toutefois, l'augmentation du rétrocontrôle négatif de l'axe corticotrope a été rapportée dans des études portant sur les différents modèles animaux (Liberzon et al., 1997; Louvart et al., 2006; Kohda et al., 2007; Borghans and Homberg, 2015). Chez l'homme, l'injection de dexaméthasone, un glucocorticoïde de synthèse se liant aux récepteurs GR et qui active le rétrocontrôle négatif, a pour effet de diminuer les taux de cortisol de façon exagérée chez des patients TSPT (Goenjian et al., 1996; Duval et al., 2004; Newport et al., 2004; Yehuda, 2009). Cette augmentation du rétrocontrôle négatif aurait pour effet d'augmenter le nombre de récepteurs GR (Michopoulos et al., 2016), ainsi que leur sensibilité aux glucocorticoïdes (pour revue Yehuda, 2009). On retrouve d'ailleurs chez l'animal des augmentations de GR dans l'hippocampe dans le modèle d'exposition au prédateur ou bien dans le SPS (Liberzon et al., 1999b; Kozlovsky et al., 2009), présentes également chez les femelles (Keller et al., 2015a), ainsi qu'au niveau du CPF (Knox et al., 2012; George et al., 2015). Comme l'activation de l'axe corticotrope conduit à la libération de la CRH et de l'ACTH, ces taux ont également été analysés. Les patients TPST présentent une augmentation du taux de CRH dans le liquide céphalo rachidien (Bremner et al., 1997b; Sautter et al., 2003), mais aussi au niveau périphérique (Michopoulos et al., 2016), augmentation retrouvée chez des animaux SPS (Sabban et al., 2015). Au contraire, les taux d'ACTH plasmatiques sont normaux au niveau basal (Liberzon et al., 1999a), mais sont diminués après injection de dexaméthasone (Duval et al., 2004). Chez l'animal, après un stress chronique de défaite sociale ou un stress aigu comme le SPS, on retrouve aussi une diminution du taux d'ACTH, respectivement au niveau plasmatique (Hammels et al., 2015) et hypophysaire (Yoshii et al., 2008).





**Figure 12 : Réponses de l'axe corticotrope à un stress chez un sujet sain et un patient TSPT, adaptée de (Yehuda et al., 2015)**

*Modifications de l'axe corticotrope chez les TSPT avec un taux de CRH plus élevé, de cortisol plus faible au niveau basal, et un rétrocontrôle négatif plus important avec un taux de récepteurs GR augmenté par rapport aux sujets sain*

Si les effets résultants des modifications de l'axe corticotrope ne concordent pas toujours, c'est parce que cet axe est soumis à deux tendances opposées. En effet, l'activation de l'amygdale et du système noradrénergique a pour effet d'activer l'axe corticotrope, alors que celle de l'hippocampe et du cortex préfrontal ont tendance à l'inhiber. Lorsque ces deux structures sont hypo-actives, comme c'est le cas dans le TSPT, la balance penche plus du côté de l'activation de l'axe corticotrope, avec des taux de CRH et ACTH qui augmentent ce qui entraîne une augmentation du rétrocontrôle négatif, responsable d'une diminution du taux de CRH et ACTH, impliquant une cyclicité modifiée (Yehuda et al., 1996).

L'ensemble des modifications physiologiques sur la neurotransmission et sur l'axe corticotrope, mais aussi leurs conséquences possibles en cas de TSPT est résumé dans le tableau 6.

<b><u>Neurobiologie</u></b>	<b><u>Anomalies observées</u></b>	<b><u>Conséquences possibles</u></b>
<b>Axe corticotrope</b>	- Hypocortisolisme - Augmentation de la CRH	- Augmentation de la réponse au stress - Favorise l'atrophie hippocampique - Augmentation de l'anxiété
<b>Noradrénaline et dopamine</b>	Augmentation des concentrations	- Rôle possible dans le conditionnement de peur - Réactions de sursauts exagérés - Codage de souvenirs de peur - Augmentation de la tension artérielle et de la fréquence cardiaque
<b>Sérotonine</b>	Diminution des concentrations	Altérations des interactions entre amygdale et hippocampe
<b>Acide aminés</b>	- Diminution de l'activité du système GABA - Augmentation de l'activité du système glutamate	- Symptômes d'intrusion - Altération de la vigilance - Réactions de sursaut - Troubles de la mémoire - Symptômes de dissociation
<b>NPY</b>	Diminution de la concentration plasmatique	Augmentation de la réponse au stress

***Tableau 6 : Anomalies neurobiologiques présentes dans le TSPT et leurs conséquences possibles***  
***(repris de Decam, 2012)***

#### **4. Traitements**

Le TSPT induit des symptômes variés et invalidants, plaçant les patients atteints dans un état de souffrance qu'il convient de traiter durablement. Cependant, le TSPT n'a jusqu'à présent pas de traitement spécifique. Beaucoup ont été essayés seuls ou en combinaison, mais peu d'entre eux sont durablement efficace et les taux de rechute restent toujours très importants, comme nous l'avons déjà souligné (40% ; Tarrrier et al., 1999). Ces traitements sont soit des pharmacothérapies, soit des thérapies comportementales et le plus souvent des associations de plusieurs traitements. Dans un premier temps, certaines méthodes visent à limiter la survenue des symptômes dans un but de prévention, comme les débriefings précoces. Une fois la pathologie déclarée, on distingue des traitements de première intention, donnés en premier lieu pour soigner la pathologie, puis des traitements

de deuxième intention, si les premiers ne donnent pas de signes d'amélioration ou que les effets secondaires sont trop importants.

#### 4.1. Débriefings précoces

Cette méthode est considérée comme un traitement primaire, ayant pour but d'empêcher le développement de la pathologie. Le débriefing consiste à faire un bilan psychologique auprès des individus qui ont subi un événement traumatisant, par une intervention brève (une seule séance) et précoce (de 24 à 72h après l'incident traumatique ; Marchand and Boyer, 2003). L'individu doit expliquer le déroulement de la scène, avec le plus de précisions possible et dans l'ordre chronologique. Il faut que la personne s'exprime le plus spontanément possible en décrivant ce qu'il a vu et ressenti, les émotions et les réactions associées. Le but est de permettre à l'individu d'évacuer ses émotions et frustrations liées à l'événement, de favoriser la verbalisation autour de celui-ci pour accélérer la réadaptation des victimes et de rétablir le lien temporel des événements (Marchand and Boyer, 2003). Cette méthode, de plus en plus utilisée pour tous les événements de masse, concerne les militaires ou les civils, sur des événements tels que des attentats. Cependant bien qu'un certain nombre d'études de cas rapportent les bienfaits de cette technique (Armstrong and O'Callahan, 1991; Robinson and Mitchell, 1993; Lane, 1994; Rosebush, 1998), les études comparatives ne rapportent pas de différences significatives entre les groupes exposés ou non à ces débriefings précoces (pour revue Marchand and Boyer, 2003; Sharpless and Barber, 2012). Dans l'ensemble, les études ne permettent pas de supporter l'efficacité de telles interventions, et les plus récentes montrent même dans certains cas leur propension à aggraver les symptômes du TSPT à long terme (Ruzek and Watson, 2001; Bolton et al., 2015; Greenberg et al., 2015; Kearns et al., 2015).

#### 4.2. Pharmacothérapies

##### 4.2.1. Inhibiteurs spécifiques de la recapture de la sérotonine (ou ISRS)

Les ISRS, dont le rôle est d'augmenter les taux de sérotonine au niveau des fentes synaptiques, sont actuellement considérés comme des traitements de première intention. Il s'agit d'antidépresseurs comme la fluoxétine (Prozac), de la paroxétine (Paxil) et de la sertraline (Zoloft), ces deux derniers, approuvés par l'agence américaine des produits alimentaires et médicamenteux (Food and Drug Administration FDA), présentent une autorisation de mise sur le marché en France (Sharpless and Barber, 2012; HAS, 2015). Des

études en double aveugle contre placebo montrent une efficacité de ces traitements (pour revue Bandelow et al., 2008), contredites par d'autres études montrant qu'ils n'étaient que partiellement (Stein et al., 2006, 2009) voire peu efficaces (Hertzberg et al., 2000). Globalement, les ISRS ont quand même pour effet de diminuer les principaux symptômes du TSPT, comme les intrusions, l'évitement et l'hypervigilance, mais leur impact sur l'évitement est assez restreint. Ce traitement serait efficace chez 40 à 85% des sujets après 5 à 6 semaines de traitement (Whitney, 2002). Toutefois, de nombreux effets secondaires qui restent relativement bénins ont été observés, comme une agitation, une augmentation des symptômes anxieux, et une insomnie durant les premiers jours du traitement. Chez l'animal, l'efficacité de ces traitements a été beaucoup étudiée. L'utilisation de ISRS tel que la paroxétine permet de corriger les changements induits par l'exposition à des chocs électrique comme l'hypervigilance (Sawamura et al., 2004; Wakizono et al., 2007), l'évitement du compartiment associé au choc et l'anxiété (Bentefour et al., 2016). Des effets comparables ont été aussi obtenus sur des rats exposés aux prédateurs ou à l'odeur de prédateur (Kesner et al., 2009), à la défaite sociale avec une diminution des comportements de type dépressif (Hammels et al., 2015), et dans le SPS où l'utilisation de la fluoxétine ou de la paroxétine corrige l'effet du stress sur la régulation du récepteur 5-HT<sub>1A</sub> (Harvey et al., 2004a), et prévient l'augmentation de la peur conditionnée au contexte (Takahashi et al., 2006) ainsi que de l'anxiété (Wang et al., 2008).

Malgré l'acceptation générale d'utilisation des ISRS comme traitement de première intention pour le TSPT, seule une partie des patients va répondre au traitement, conduisant à la nécessité de le combiner avec d'autres stratégies (Ipser and Stein, 2012). Les nombreuses données sur ce traitement indiquent également que plus d'un quart des patients rechute après l'arrêt du traitement (Davidson et al., 2001) suggérant la nécessité d'une prise chronique de ces médicaments pendant au moins un an (Bandelow et al., 2008).

#### **4.2.2. Inhibiteurs spécifiques de la recapture de la sérotonine et de la noradrénaline (ou ISRSNa)**

Les ISRSNa comme la venlafaxine (Effexor, Trevilor) qui inhibent non seulement la recapture de la sérotonine mais aussi celle de la noradrénaline font également partie des traitements de première intention. Leur efficacité a été démontrée dans plusieurs études, bien qu'ils soient associés à des effets secondaires tels que la nausée, des impatiences ou des insomnies en début de traitement (Bandelow et al., 2008). Leur efficacité a aussi été

testée après un stress chronique de défaite sociale chez l'animal montrant des effets bénéfiques sur les comportements sociaux (Hammels et al., 2015).

#### **4.2.3. Antidépresseurs tricycliques (ou ATC)**

Les ATC, notamment l'amitriptyline (elavil) et l'imipramine (tofranil), ont pour effet d'augmenter le taux de sérotonine et noradrénaline et sont considérés comme traitements de deuxième intention (Sharpless and Barber, 2012). Leur efficacité a été montrée dans plusieurs études (Davidson et al., 1990; Kosten et al., 1991), ainsi que chez l'animal après un stress chronique (Hammels et al., 2015). L'effet antidépresseur recherché peut apparaître à partir de 4 semaines chez l'homme, cependant, les effets secondaires rapportés sont beaucoup plus néfastes que ceux des IRSS. En effet, ces traitements induisent en début de traitement une accentuation de l'anxiété, une sédation, une tachycardie et une altération des capacités psychomotrices, avec des risques graves en cas de surdosage, comme une cardiotoxicité ou des convulsions.

#### **4.2.4. Inhibiteurs des monoamines oxydases (IMAO)**

Les IMAO ont pour effet d'augmenter le taux de monoamines. Le Moclobémide est un IMAO réversible, c'est-à-dire que les liaisons entre cet IMAO et ses récepteurs cibles peuvent se défaire. Les résultats sont contradictoires concernant l'efficacité d'IMAO, indiquant parfois une efficacité supérieure au placebo, et d'autres fois aucun effet (Bandelow et al., 2008). Pour les IMAO irréversibles (phenelzine Nardil), dont la liaison avec les récepteurs cibles est permanente, les effets secondaires et les interactions graves avec d'autres médicaments ou aliments incitent à ne les délivrer qu'en dernier recours, bien qu'une étude ait montré son efficacité (Kosten et al., 1991).

#### **4.2.5. Autres composés**

Un inhibiteur spécifique de la recapture de la noradrénaline, la mirtazapine (Remeron), et un anticonvulsant (lamotrigine) ont également montré leur efficacité chez des patients TSPT par rapport au placebo et d'autres traitements (Bandelow et al., 2008).

La buspirone, un agoniste partiel des récepteurs 5-HT<sub>1A</sub> est un anxiolytique qui semble diminuer la libération de 5-HT, par son mécanisme d'action qui n'est pas clairement établi encore aujourd'hui. Ce médicament a permis de réduire les symptômes de TSPT dans quelques rares études de cas (Wells et al., 1991; Duffy and Malloy, 1994), et son efficacité reste donc à confirmer.

Les benzodiazépines (ou BZD) qui ont une efficacité anxiolytique dès le début du traitement, ont également été utilisées pour traiter le TSPT. Bien que contrairement aux antidépresseurs, ils n'induisent pas de nervosité en début de traitement, ils peuvent induire une sédation, des vertiges et affecter les fonctions cognitives. De plus, une dépendance peut subvenir après un traitement à long terme et leur utilisation est actuellement plutôt déconseillée. Sa faible efficacité sur les symptômes TSPT n'en fait pas un bon candidat, et est d'ailleurs généralement proscrit (Braun et al., 1990).

Chez l'animal, l'infusion intranasale de neuropeptide Y avant ou juste après le SPS prévient les modifications induites par ce modèle telles que l'anxiété, la vigilance, l'augmentation de corticostérone, l'augmentation de GR dans l'hippocampe et l'augmentation de l'expression de la tyrosine hydroxylase après un stress (Serova et al., 2013; Sabban et al., 2015). Bien que de nombreuses évidences supportent l'efficacité potentielle de ce neuropeptide dans le traitement du TSPT, il n'existe à l'heure actuelle aucune étude chez l'homme (Schmeltzer et al., 2016).

Dans le modèle de chocs électrique avec réexposition au contexte chez l'animal, il a également été montré que la clonidine et la prazosine (agonistes récepteurs adrénergiques), ainsi qu'un antagoniste dopaminergique étaient capables de corriger les effets induits par ce stress (Olson et al., 2011; Corral-Frias et al., 2013).

### 4.3. Psychothérapies

#### 4.3.1. Thérapies d'exposition prolongée TEP

Mises en place par Foa et Rothbaum sur la base de données obtenues chez l'animal (Foa et al., 2007), les thérapies d'expositions prolongées ciblent les souvenirs traumatiques par une exposition imaginaire ou réelle de l'événement (Salcioglu and Basoglu, 2010). Les sujets doivent raconter leurs souvenirs de manière répétée (exposition imaginaire) ou sont confrontés à des éléments déclencheurs du traumatisme (exposition réelle). Ces expositions, qui induisent de l'anxiété, vont être répétées jusqu'à ce que les patients apprennent à ne plus réagir à ces stimuli redoutés puisqu'ils n'apportent plus de conséquences défavorables (Univ. Douglas et McGill, 2010). Ces expositions répétées induisent des processus d'extinction permettant d'induire une réduction progressive de la peur. Cette technique part de l'hypothèse que les patients cherchent à éviter la réactivation des souvenirs trop douloureux, ce qui empêche leur intégration de façon adéquate. Chez l'animal, cette technique est généralement utilisée après un conditionnement classique de peur par le biais

d'un protocole d'extinction (Hofmann, 2008; Golub et al., 2009; VanElzakker et al., 2014). Grâce au développement de nouvelles technologies, l'utilisation de la réalité virtuelle dans ces thérapies d'expositions permet aux patients de se confrontés à des situations de rappel plus souples et contrôlables que la réalité (Sharpless and Barber, 2012).

#### **4.3.2. Thérapies cognitivo-comportementales TCC**

Les thérapies cognitivo-comportementales permettent d'atténuer les émotions douloureuses et les croyances irrationnelles de culpabilité (Whitney, 2002), mais aussi de restructurer ou corriger les modes de pensée dysfonctionnels responsables des détresses psychologiques et de l'anxiété (Salcioglu and Basoglu, 2010). Elles se basent sur une multitude de stratégies d'interventions : l'expression des émotions liées au traumatisme, la restructuration des pensées dysfonctionnelles, la psychoéducation, la gestion des composantes anxieuses et somatiques du trouble ou bien l'exposition aux situations anxiogènes. Certaines thérapies combinent plusieurs stratégies, notamment l'exposition aux situations anxiogènes qui est la plus reprise, incluant une partie de la thérapie d'exposition afin d'exposer le sujet aux situations qu'il redoute, associée à des techniques de détente et relaxation permettant de calmer l'angoisse et la détresse des patients. Le nombre et la durée des séances de traitement varient selon les programmes de thérapie cognitive, mais les études à répartition aléatoire proposent généralement de 4 à 30 séances d'une durée variant entre 60 et 120 minutes (Salcioglu and Basoglu, 2010). Ces thérapies se sont révélées être les plus efficaces contre le TSPT, notamment en association avec des ISRS (Kar, 2011). Les TCC ont également été associées à des traitements qui favorisent la confiance en soi et facilite l'expression de l'expérience vécue. Historiquement, on peut noter l'utilisation d'amphétamine dans les années 60 dans des protocoles de narcose amphétaminique, qui ont permis d'obtenir des améliorations de symptômes chez des sujets TSPT (Delay, 1949; Houlihan, 2011). Dans les années 90, un dérivé de l'amphétamine, le méthylendioxyamphétamine (MDMA ou ecstasy) délivré en association avec une psychothérapie a été également utilisé pour aider les soldats résistants aux traitements pour le TSPT (pour revue Parrott, 2007). Il est proposé que l'effet positif de sensation d'empathie qu'induit le MDMA facilite l'alliance thérapeutique, permettant de réduire les symptômes de la pathologie (Greer and Tolbert, 1986; Doblin, 2002). Ces traitements ont ensuite été abandonnés car ces molécules présentent des risques d'addiction.

### **4.3.3. Eye Movement Desensitization and Reprocessing EMDR**

Cette technique a été mise au point par le Dr. Francine Shapiro (Shapiro, 1989). L'EMDR combine un récit de l'épisode traumatique par le patient avec des périodes au cours desquelles le sujet doit suivre avec les yeux le doigt du thérapeute qui effectue des mouvements de balayage gauche/droite. Ce phénomène fait appel à la stimulation bilatérale du cerveau par des mouvements oculaires rapides pendant que le sujet raconte son histoire traumatique, afin de « retraiter le souvenir qui n'aurait pas été intégré correctement ». Généralement, quelques séances sont suffisantes pour diminuer les émotions liées au traumatisme (Shepherd et al., 2000; Taylor et al., 2003; Seidler and Wagner, 2006; Ahmad et al., 2007), avec une efficacité semble-t-il comparable aux TCC. Au cours des séances, les sujets décrivent un sentiment d'éloignement, une transformation du souvenir traumatique, mais aussi une diminution de la valence négative qui lui était associée. Bien que le mécanisme rendant ce traitement efficace ne soit actuellement pas encore connu, certains scientifiques évoquent la parenté avec les mouvements oculaires lors des phases de sommeil paradoxal, phase impliquée dans la régulation des émotions (Gujar et al., 2011), permettant alors de faciliter l'intégration corticale des mémoires traumatiques dans les réseaux sémantiques généraux (Stickgold, 2002). Toutefois, il a été montré que les stimulations oculaires pouvaient être remplacées par des stimulations sonores ou tactiles, conduisant à d'autres hypothèses comme l'induction d'état d'hypnose. Il est suggéré que l'EMDR pourrait induire des ondes alpha de relaxation, mettant le sujet dans un état proche de l'hypnose, avec une modification de l'état de conscience. Enfin, plus récemment, une diminution de l'hyperactivité du cortex dorso-latéral préfrontal, pouvant être une base neurobiologique de cette technique a été proposée (Ohtani et al., 2009). L'efficacité de l'EMDR a été reconnue comme un traitement efficace du TSPT par l'OMS et elle est de plus en plus utilisée en France.

### **4.3.4. Autres techniques**

De nombreuses autres thérapies sont également utilisées. C'est le cas des thérapies de groupe, qui consiste à former un groupe de parole est formé par des individus ayant vécu le même type de traumatisme afin de parler de leur histoire et d'écouter celle des autres (Univ. Douglas et McGill, 2010). Cela permet de s'intégrer dans un groupe, et de ne pas s'isoler, tout en parlant de son expérience et recevoir du soutien des autres. Enfin, certaines techniques hypnotiques peuvent également être utilisées, à condition d'être délivrées par



des professionnels expérimentés. L'hypnose peut être utilisée comme une thérapie de soutien permettant de contrôler l'anxiété, mais également pour aider le sujet à se remémorer le déroulement de l'événement. L'hypnose pourra ainsi permettre de réorganiser temporellement le vécu traumatique, mais également de créer un espace de bien-être et de sérénité où le sujet peut rêver (Smaga, 2008).

#### 4.4. Traitements perturbant la consolidation-reconsolidation

Comme nous l'avons vu au début de cette introduction, de nombreux travaux ont montré que des traitements délivrés peu après l'acquisition d'une information perturbent la rétention de cette information. Lorsqu'en 2000, la possibilité de faire de même après la réactivation de cette information a été de nouveau démontrée, plusieurs auteurs ont eu l'idée de se servir de cette possibilité à des fins thérapeutiques. La majorité des travaux récents montrant des amnésies expérimentales chez l'animal utilisent des inhibiteurs de synthèses protéiques (des antibiotiques) à des doses très fortes, rendant leur utilisation impossible chez l'homme (voir pour revue Tronson and Taylor, 2007; Besnard et al., 2012). Cependant, dans la panoplie des agents dits amnésiants, on trouve également le propranolol, un antagoniste des récepteurs bêta-adrénergiques, utilisé chez l'homme comme traitement contre l'hypertension. De nombreuses études ont montré que le propranolol pouvait induire des amnésies lorsqu'il était délivré après des apprentissages aversifs, ou après leur réactivation. On considère que ce traitement interfère avec les processus de consolidation et de reconsolidation. Les deux premières études réalisées chez des sujets exposés à des événements traumatiques, ont délivré le propranolol juste après le traumatisme. Elles ont montré que le traitement réduisait le taux de TSPT ainsi que la force des symptômes de reviviscences par rapport à des sujets placebo ou non traités (Pitman et al., 2002; Vaiva et al., 2003). Cependant, l'utilisation d'un tel traitement s'avère difficile puisque pour être efficace il doit être appliqué lorsque la trace mnésique est encore active, ce qui est techniquement très difficile pour de nombreux patients. Cependant, comme il a été montré que la trace retrouve un état de malléabilité lors de sa réactivation, certains auteurs ont suggéré de tenter son application pendant la période de reconsolidation (Sara et al., 1999; Nader et al., 2000). Chez l'animal, plusieurs études ont montré la capacité du propranolol à perturber la rétention d'un apprentissage aversif après sa réactivation (Debiec and Ledoux, 2004; Debiec and LeDoux, 2006; Muravieva and Alberini, 2010). Depuis, de nombreuses expérimentations visant à étudier l'effet du propranolol sur la rétention

d'apprentissage aversifs et sur les patients TSPT pour tenter de perturber la rétention de leur traumatisme. Les résultats obtenus sont largement contradictoires. Certaines études ne montrent aucun effet du traitement (Tollenaar et al., 2009; Wood et al., 2015) alors que d'autres rapportent des perturbations de rétention (Brunet et al., 2008; Soeter and Kindt, 2012).

Les études les plus récentes rapportent cependant de meilleurs résultats en modifiant les conditions d'application du traitement, notamment en administrant le traitement avant la réactivation et non après et en délivrant plusieurs séances de traitement (Brunet et al., 2011; Kroes et al., 2016). D'autres molécules agissant sur le système du stress ont aussi été envisagées, comme le mifépristone, qui est un antagoniste glucocorticoïde, ou le metyrapone, qui bloque la synthèse de cortisol. Si cette première molécule a pour conséquence de diminuer la mémoire associée à un conditionnement de peur ou d'évitement passif chez l'animal (Jin et al., 2007; Taubenfeld et al., 2009; Pitman et al., 2011), la deuxième permet de diminuer la mémoire d'images négatives chez des sujets sains (Marin et al., 2011; Rimmele et al., 2015). Toutefois, seul le mifépristone a été utilisé chez des patients TSPT ne reproduisant pas les effets bénéfiques rapportés de l'animal (Wood et al., 2015).



### III – Bases physiologiques communes entre TPST et dépendance aux drogues d’abus

Tout comme le trouble de stress post traumatique, la pathologie de l’addiction présente une hypersensibilité aux indices de rappel, responsables de la persistance de la pathologie et de nombreuses rechutes. Après une description rapide de la pathologie de l’addiction, ce chapitre présente les nombreux points communs qu’elle partage avec le TSPT, permettant alors d’envisager des bases physiologiques communes pour ces deux pathologies.

#### 1. Caractéristiques Addiction/Dépendance aux drogues

##### 1.1. Généralités

L’addiction, ou la dépendance, est un problème de santé public majeur, avec un taux de prévalence de 8.6% en France chez les 12-75 ans (Arvers, 2003), et un taux plus élevé chez les hommes (13.3%) que chez les femmes (4%). Le terme de dépendance est plus communément utilisé pour désigner la pharmacodépendance (à une substance), alors que l’addiction est un terme plus généraliste, tenant compte des dépendances comportementales (jeux, nourritures, etc.). Dans ce manuscrit, nous utiliserons sans distinction addiction et dépendance pour désigner la pathologie, qui correspond à un désordre psychiatrique chronique caractérisé par (1) une compulsivité de la recherche et de la prise de drogue, cela au dépend de la vie personnelle et sociale de l’individu, (2) une perte de la capacité à contrôler la consommation, associée d’un désir irrésistible de drogue (craving) malgré les conséquences néfastes qu’il engendre, et (3) une augmentation d’un état émotionnel négatif lors des périodes de sevrage. La dépendance intervient à partir du moment où la consommation passe d’un usage contrôlé à une prise compulsive. Elle ne touche qu’une partie de la population exposée aux drogues d’abus (6 à 15% en général, et jusqu’à 33% pour le tabac ; Anthony et al., 1994). La consommation abusive de produits addictifs entraîne des conséquences néfastes sur la santé des personnes dépendantes, mais également sur leurs conditions de vie : perte de travail et éloignement social (amis et famille). L’addiction entraîne des problèmes de prise de décision, privilégiant des effets bénéfiques à courts termes (plaisir que procure la prise de drogue), aux effets négatifs à longs termes (santé, marginalisation, manque). Cette pathologie se caractérise également

par des rechutes très fréquentes pouvant intervenir, même après de longues périodes d'abstinence (Anthony et al., 1994).

On considère que les drogues d'abus se répartissent en trois catégories : les psychostimulants, les dépresseurs, et les perturbateurs, qui ont respectivement des effets d'excitation, de ralentissement ou d'hallucination sur le système nerveux central comme décrit dans le tableau ci-dessous.

	<b>Excitation du SNC</b>	<b>Ralentissement du SNC</b>	<b>Hallucination du SNC</b>
<b>Psychostimulants</b> - Amphétamine/Ecstasy - Cocaïne - Tabac	Augmente l'état d'éveil et de vigilance	/	/
<b>Dépresseurs</b> - Alcool - Opiacés (morphine, héroïne)	/	Etat de relaxation, voire de sommeil	/
<b>Perturbateurs</b> - Cannabis - LSD - Inhalant (colle, essence, solvant)	/	/	Altérations de la perception, de la pensée et de l'humeur

**Tableau 7 : description des effets des différentes catégories de drogue sur le système nerveux central**

Les forts taux de rechute (50%) associés à cette pathologie signent le manque d'efficacité des traitements actuels. Ces rechutes ont trois causes majeures : la prise, même minime de substance, le stress, et l'exposition à des stimuli associés à la prise de drogue. Les symptômes associés à l'addiction comme indiqué dans le DSM-5 sont classés en 11 critères (voir tableau 8). Il faut exprimer deux (ou plus) de ces 11 critères pendant au moins 12 mois pour être considéré comme dépendant.

- 1- Désir irrésistible de consommer la drogue (= *craving*)
- 2- Recherche de la substance de façon chronophage (= *wanting*)
- 3- Prise en quantité plus importante ou prolongée que prévu initialement
- 4- Augmentation de la tolérance (besoin de quantité plus forte ou effet diminué)
- 5- Sevrage (symptômes de sevrage ou prise de substance pour limiter les symptômes de sevrage)
- 6- Difficultés à remplir des obligations importantes (professionnelles, scolaires ou familiales)
- 7- Consommation répétée dans des situations à risque
- 8- Abandon ou réduction du temps des activités sociales, professionnelles ou de loisir au profit de l'utilisation de la substance
- 9- Effort de diminution de consommation infructueux
- 10- Poursuite de la consommation malgré l'impact négatif sur la vie sociale susceptible d'avoir été causé ou empiré par la substance
- 11- Poursuite de la consommation malgré les dégâts psychologiques ou physiques

**Tableau 8 : critères de dépendance à une substance selon le DSM-V**

D'autres symptômes et signes physiques liés à l'abus de substance peuvent se manifester, comme de l'anxiété, le retrait social, la perte d'intérêt pour des activités autrefois appréciées et une diminution de la concentration. Les symptômes de sevrage parfois associés se caractérisent par des tremblements, des sueurs, une agitation, des angoisses et de l'anxiété, une humeur dépressive, une réduction des capacités cérébrales, des insomnies, troubles du sommeil et cauchemars, des nausées ainsi qu'une certaine irritabilité et agressivité (CIM-10).

## 1.2. Etapes et théories de la dépendance

L'addiction est une pathologie qui se met en place progressivement (Piazza and Deroche-Gamonet, 2013). L'évolution commence par une consommation de type récréatif et occasionnel. La prise de drogue va stimuler le circuit de la récompense, induisant une libération de dopamine par les neurones de l'aire tegmentale ventrale projetant dans le noyau accumbens. La prise répétée va permettre un apprentissage de l'association entre la consommation de drogue et le plaisir intense qu'elle génère. Ensuite, et seulement pour une partie de la population, la consommation devient de plus en plus fréquente et importante. Cette vulnérabilité individuelle semble résulter d'une sensibilisation du système dopaminergique et d'une altération des fonctions préfronto-corticales, générant une

habitude de consommation de drogue (Bobadilla, 2014). Enfin, la phase de perte de contrôle, pendant laquelle l'individu va passer la majorité de son temps à rechercher la drogue. Ce sont les effets de l'état de manque qui vont forcer l'individu à consommer de la drogue afin de diminuer ces symptômes (Bobadilla, 2014).

Plusieurs théories tentent d'expliquer la transition de la consommation contrôlée à la consommation incontrôlée, étape clé de la dépendance. Selon la théorie des renforcements positifs (Wise and Bozarth, 1987), les sujets vont avoir tendance à augmenter la fréquence de la prise de substance pour rechercher les effets plaisants de la drogue (par activation du système de la récompense). Cependant, l'effet récompensant diminue avec le temps, suggérant qu'un autre processus se met en place afin d'expliquer le maintien de la pathologie. Une deuxième théorie, celle des renforcements négatifs (Ahmed and Koob, 2005), pourrait expliquer la persistance de la prise de drogue. Les sujets vont avoir tendance à reprendre la substance pour éviter les conséquences désagréables qu'engendre le sevrage. La théorie de la contre adaptation (Solomon and Corbit, 1974) reprend ces deux dernières théories, et propose que l'expérience générant un plaisir intense soit suivie d'une sensation de déplaisir, de moindre intensité. Avec le temps, la balance d'intensité tendrait à s'inverser, conduisant à augmenter ses prises de drogue pour retrouver le plaisir initial. Une théorie alternative propose que l'addiction résulte d'un conditionnement entre le produit et le contexte conduisant l'individu à vouloir reprendre de la drogue par automatisme s'il se retrouve dans ce même contexte. La prise de drogue devient alors automatique, comme une habitude. Une dernière théorie tente d'expliquer la mise en place d'un comportement compulsif, celle de la sensibilisation de la motivation (Robinson and Berridge, 2008). Elle propose que la dépendance se met en place chez les individus dont la prise répétée de drogue sensibilise le système dopaminergique, attribuant une forte motivation aux stimuli associés à la prise de drogue (pour revue Bobadilla, 2014). Les changements neuronaux vont permettre d'attribuer une forte motivation aux indices associés à la prise de drogue, amenant à un comportement de recherche intense (*wanting*). Cette sensibilisation se maintiendrait à long terme, et pourrait également être responsable des rechutes même après une longue période d'abstinence.

Ces différentes théories et caractéristiques sont issues de modèles animaux que nous allons rapidement présenter.

### 1.3. Modèles animaux

De par la complexité de la pathologie de l'addiction et de ses différentes phases, aucun modèle animal ne reflète l'ensemble des processus impliqués dans la dépendance aux drogues chez l'homme. Cependant, chacun reflète une ou plusieurs des caractéristiques de cette pathologie.

#### 1.3.1. Conditionnement de préférence de place (CPP)

Le conditionnement de préférence de place, très facile à mettre en œuvre, est basé sur l'association entre la drogue (injectée par l'expérimentateur) et un lieu/compartiment particulier. Si l'animal passe plus de temps dans le compartiment ayant été associé à la prise de drogue que dans un compartiment neutre lors d'une exploration libre, c'est que la drogue a un effet récompensant. Bien que toutes les drogues (comme l'amphétamine, la cocaïne, la nicotine, l'éthanol, etc.) induisent une préférence de place conditionnée (Bardo and Bevins, 2000), d'autres récompenses naturelles comme par exemple la nourriture, l'eau ou l'accouplement également. Bien que la volonté de l'animal ne soit pas prise en compte dans ce conditionnement classique, ce modèle a été beaucoup utilisé pour étudier le sevrage et ses effets aversifs possibles lors d'un test ultérieur sans délivrance de drogue. Ce modèle ne permet donc pas de mesurer une dépendance proprement dite, mais plutôt la satisfaction induite par le produit injecté (Bobadilla, 2014)

#### 1.3.2. Modèle de l'auto-administration

Beaucoup plus complet, le modèle de l'auto-administration de drogue est basé sur un apprentissage dans lequel une réponse comportementale, comme l'appui sur un levier, va être associée à la délivrance de la drogue (généralement en injection intraveineuse ou intracérébrale). Ce modèle permet d'étudier les différentes phases de la pathologie : l'acquisition (apprentissage opérant), puis le maintien (prise de drogue stable), ensuite l'extinction (absence de délivrance de drogue) et enfin la rechute (restauration du comportement opérant). La sélection de certains critères (voir tableau 9) a permis également de compléter ce modèle et de mettre en évidence une variabilité individuelle avec un taux de 17%, très comparable au taux de vulnérabilité à l'addiction chez l'homme (Deroche-Gamonet et al., 2004; Belin et al., 2011).



<b>Critères chez l'homme</b>	Difficultés pour arrêter la prise de drogue	Forte motivation pour la recherche de drogue	Consommation malgré conséquences négatives
<b>Modélisation chez le rongeur :</b> <i>Persistance du comportement</i>	Indication d'indisponibilité de la drogue	Augmentation du nombre d'appuis levier pour obtenir la récompense	Association prise de drogue avec punition

***Tableau 9 : sélection des critères pour étudier la variabilité individuelle selon (Deroche-Gamonet et al., 2004)***

### **1.3.3. Sensibilisation comportementale**

Un dernier modèle, celui de la sensibilisation comportementale, est quant à lui basé sur la théorie de la sensibilisation du système de la récompense (motivation, voir section A-II.1.2). Il repose sur le fait que des injections répétées de toutes les drogues induisent une activité locomotrice qui se potentialise au cours des injections à dose constante (Post and Rose, 1976; Post, 1980; Bartoletti et al., 1983; Robinson and Becker, 1986). Ce modèle, largement utilisé pour comprendre les circuits neuronaux mis en jeu lors de la prise répétée de drogue ainsi que les changements neurobiologiques induits en réponses aux psychostimulants, comporte deux phases : l'initiation/induction (développement) et l'expression. L'induction s'intéresse aux modifications cellulaires et moléculaires qui s'observent au fur et à mesure des injections (développement). L'expression correspond aux conséquences à long terme des modifications initiales qui s'observent après une période d'abstinence, reproduisant un sevrage (Kalivas and Stewart, 1991). Bien que ce modèle soit par de nombreux aspects moins intéressants que le modèle précédent, nous allons le détailler puisqu'il a servi de support à nos hypothèses expérimentales.

La sensibilisation comportementale est intéressante à plusieurs niveaux :

- Elle est commune aux différentes classes de drogue, et des sensibilisations croisées ont été souvent rapportées. On peut obtenir des sensibilisations croisées, c'est-à-dire que l'induction et l'expression sont produites par des produits différents : si l'induction a été faite avec de l'amphétamine ou de l'éthanol, la sensibilisation peut s'exprimer avec de la cocaïne (Bonate et al., 1997; Cadoni et al., 2001) ; si l'induction a été faite par de la morphine, l'expression de la sensibilisation peut se faire grâce à de l'amphétamine et inversement (Vanderschuren et al., 1997; Lanteri et al., 2008). Cette caractéristique suggère l'existence d'un mécanisme commun aux différentes classes de drogues.

- Elle se maintient à très long-terme. Son expression a été mise en évidence de plusieurs mois à une année (Paulson et al., 1991; Vanderschuren et al., 1997; Salomon et al., 2006), indiquant qu'elle résulte de processus durables
- La sensibilisation est plus importante si les conditions de réexposition sont les mêmes que celles de l'induction (Vezina et al., 1989), démontrant ainsi l'impact du contexte et des stimuli associés à la prise de drogue.
- Les animaux sensibilisés sont également ceux qui présentent une préférence de place et une augmentation de l'auto-administration de drogue, indiquant la validité de ce modèle dans l'addiction.
- Seule une partie des animaux sont sensibilisés (25% ; Scholl et al., 2009) indiquant une variabilité individuelle comparable à celle décrite chez l'homme.

Les études sur la sensibilisation comportementale ont permis d'évaluer les modifications induites par les drogues. Le circuit cérébral ainsi mis en jeu implique un circuit mésocorticolimbique avec l'ATV, le NAc et le CPFm (Pierce and Kalivas, 1997). L'ATV et le CPFm semblent être impliqués dans l'induction et le développement de la sensibilisation. En effet, des injections d'amphétamine directement dans l'ATV potentialisent la libération de DA après des injections répétées (Kalivas and Weber, 1988), et des lésions du CPFm perturbent la mise en place de la sensibilisation comportementale (Cador et al., 1999), indiquant ainsi leurs rôles dans son induction. Le noyau accumbens serait quant à lui impliqué dans l'expression de la sensibilisation comportementale : des injections d'amphétamine dans cette structure induisent une libération de DA qui n'est pas potentialisée après injections répétées (Kalivas and Weber, 1988). Egalement, l'utilisation d'un antagoniste des récepteurs D2 (post-synaptiques) à la dopamine pendant la phase d'induction n'empêche pas l'expression de la sensibilisation comportementale lors d'un test ultérieur aux psychostimulants, indiquant l'importance de la DA pour l'expression de la sensibilisation comportementale, et non pour son induction (Vezina, 1996). Les systèmes noradrénergiques et sérotoninergiques sont également impliqués dans ce phénomène de sensibilisation et joueraient un rôle en amont du CPFm, comme nous le verrons plus tard (point III.3). Bien que les drogues n'induisent pas d'hyper-locomotion chez l'homme, on considère généralement que la sensibilisation de l'activité locomotrice induite par les drogues chez l'animal reflète les mécanismes neurobiologiques sous-tendus par les

processus de dépendance (besoin irrésistible de drogue) et de rechute (Robinson and Berridge, 1993; Steketee and Kalivas, 2011).

## 2. Liens entre TSPT et addiction

Si TSPT et addiction sont deux pathologies bien différentes présentant chacune des caractéristiques propres, elles présentent de nombreux points communs, qui nous ont conduits à les analyser comme des pathologies de la mémoire, reposant pour partie sur des dérégulations de processus biologiques communs.

*Cette partie reprend une grande partie de la publication de l'annexe numéro 1, Revue publiée dans Thérapie de Gisquet-Verrier, Toledano et Le Dorze, 2016.*

### 2.1. Points communs

TSPT et dépendance aux drogues d'abus partagent de nombreuses caractéristiques communes :

- Leur origine est parfaitement connue, ce qui est rare dans la sphère des troubles psychiatriques.
- Elles résultent de l'exposition à des événements extrêmes, hors normes : très négatifs (stress intense) pour le traumatisme et très positifs (plaisir intense) en ce qui concerne les drogues d'abus.
- Chacune de ces pathologies ne se développe que sur une partie de la population exposée. Dans les deux situations, le pourcentage des sujets vulnérables est similaire, se situant entre 8 et 25% des sujets exposés (Anthony et al., 1994; Kessler et al., 1995). Le reste de la population, dite résiliente, ne se distingue que très peu de la population non exposée.
- Dépendance et TSPT partagent un certain nombre de symptômes (voir DSM-5) comme l'augmentation de l'anxiété, des troubles du sommeil, une perte d'intérêt pour des activités autrefois pratiquées, un émoussement affectif, un comportement irritable voire autodestructeur, une hyper-vigilance, une modification de la réponse de sursaut, des troubles de la concentration, un isolement social ainsi qu'un défaut d'inhibition du comportement (Kalivas and Volkow, 2005; Falconer et al., 2008).
- Dépendance et TSPT partagent également des facteurs de risque communs, comme la charge de stress supportée au cours de la vie, la tendance à ressentir des affects négatifs ou encore souffrir d'une autre affection psychiatrique (Volkow, 2001;

Constans et al., 2012). De plus, le polymorphisme du gène codant pour le récepteur D2 est associé au TSPT ainsi qu'à la dépendance aux drogues (Comings et al., 1991; Voisey et al., 2009).

- Dépendance et TSPT impliquent également certaines bases neurobiologiques communes comme l'hyperactivité du système noradrénergique (Southwick et al., 1999; Weinshenker and Schroeder, 2007), l'implication du système dopaminergique (Yehuda et al., 1992; Young and Breslau, 2004), de l'axe corticotrope (de Jong and de Kloet, 2004; Yehuda et al., 2009), du complexe amygdalien et du cortex préfrontal (Shin et al., 2004; Goldstein and Volkow, 2011).
- Dans les deux cas, aucune thérapie ne s'est montrée capable de traiter efficacement et dans la durée ces deux pathologies. Le traitement le plus classique de ces pathologies repose sur des antidépresseurs souvent associés à des thérapies cognitivo-comportementales (Foa et al., 2005; McHugh et al., 2010). L'utilisation d'antagonistes du système noradrénergique semble avoir une certaine efficacité dans l'amélioration des symptômes de ces deux pathologies (Southwick et al., 1999; Kampman et al., 2001).
- Les patients sont sujets à de fréquentes rechutes pouvant intervenir même après une amélioration durable des symptômes pour le TSPT, ou après une période d'abstinence prolongée dans le cas de la dépendance (O'Brien, 1997; Tarrrier et al., 1999).
- Une caractéristique commune et centrale entre TSPT et dépendance est l'hypersensibilité aux stimuli liés aux sources même de la pathologie que sont le traumatisme ou la prise de drogue (Gisquet-Verrier, 2009). Les individus souffrant de TSPT évitent les stimuli ou situations associés au traumatisme parce qu'ils induisent des reviviscences au cours desquelles le sujet revit le traumatisme avec une réelle acuité. Ce symptôme pourrait être à l'origine de beaucoup d'autres comme augmentation de l'anxiété, troubles du sommeil, évitement des situations susceptibles d'induire ces reviviscences, émoussement social et hyper-vigilance. L'hypersensibilité aux indices de rappel est également fondamentale dans la symptomatologie générale de la dépendance. Les individus dépendants décrivent très bien le désir irrépressible et incontrôlable de drogue (ou craving) qui peut être induit par la présence de stimuli évoquant la prise de drogue, et la nécessité d'éviter

de rencontrer de tels indices. Dans les deux situations, les indices associés à l'événement peuvent précipiter les rechutes.

- Il existe une forte comorbidité entre ces deux pathologies : de l'ordre de 40% pour les individus TSPT devenant dépendants, et pour des sujets dépendants développant un TSPT (Stewart et al., 1998).

## 2.2. Causes possibles de la comorbidité

Plus de 90% des personnes atteintes de TSPT ont présenté, au moins une fois dans leur vie, d'autres troubles psychiques dont les plus fréquents sont la dépression majeure et l'abus de substance psychoactive. Plus de 52% des hommes et 28% des femmes présentant un TSPT sont touchés par la dépendance à des substances comme l'alcool et diverses drogues d'abus (Kessler et al., 1995; Baker et al., 2009). Les patients dépendants développent dans les mêmes proportions des TSPT (30 à 59% ; voir Stewart et al., 2000; Jacobsen et al., 2001). Les patients présentant une comorbidité développent généralement des symptômes plus sévères que ceux touchés par une seule pathologie (Jacobsen et al., 2001). Plusieurs explications qui ne sont d'ailleurs pas mutuellement exclusives, ont été proposées pour rendre compte de cette comorbidité.

**L'hypothèse de l'automédication** qui est la plus ancienne, postule que la prise de substance résulte de tentatives individuelles entreprises pour calmer les symptômes et la détresse engendrés par le TSPT, face à l'inefficacité des traitements.

**L'hypothèse des hauts risques** propose que la comorbidité résulte d'un trait particulier conduisant les sujets à adopter des conduites à risques qui les entraînent à essayer les drogues d'abus et à se placer dans des situations pouvant conduire à des traumatismes (Brady et al., 1998; Chilcoat and Breslau, 1998).

**L'hypothèse de la susceptibilité** postule que les individus qui consomment des substances psychoactives sont également celles les plus susceptibles de développer un TSPT parce que leurs mécanismes de défense présentent des faiblesses (Sharkansky et al., 1999; Bonin et al., 2000; Stewart et al., 2000).

D'après **l'hypothèse de facteurs communs**, les deux pathologies TSPT et dépendance partagent des précurseurs communs comme des expositions préalables à des événements traumatisants (Cottler et al., 2001; Fassino et al., 2004).

Aucune de ces hypothèses n'est à elle seule responsable de la comorbidité et toutes ont sans aucun doute une incidence sur elle. Chacune d'entre elles a reçu des appuis expérimentaux (Hien et al., 2005; Coffey et al., 2008), suggérant que la comorbidité entre TSPT et dépendance résulte d'une combinaison complexe de facteurs.

### 2.3. Réseau structural mis en jeu par les indices de rappel

Toutes ces caractéristiques communes entre addiction et TSPT mettent bien en évidence l'importance considérable des informations liées à la prise de drogue ou au traumatisme, qui en réactivant répétitivement l'envie de drogue ou l'émotion associée au traumatisme, vont entretenir la pathologie et provoquer la rechute, même après de longues périodes d'abstinence ou de rémission. Ces deux pathologies peuvent donc être considérées comme des pathologies de la réactivation mnésique résultant d'une hypersensibilité aux indices de rappel de l'événement cible, la drogue ou le traumatisme (Gisquet-Verrier, 2009). Tout se passe comme si les patients réactivaient trop facilement leurs souvenirs pathologiques.

#### 2.3.1. Dépendance aux drogues d'abus

On sait depuis longtemps que les sujets dépendants sont sensibles aux indices associés à la prise de produit ou aux conditions dans lesquelles ces événements prennent place (seringue, billet, petite cuillère, visage du dealer, locaux...). Les patients rapportent que l'exposition à ces indices induit un désir irrésistible de drogue, le craving des anglo-saxons, pouvant provoquer une rechute. Plusieurs études d'imagerie cérébrale ont permis de déterminer le réseau structural activé par l'exposition de sujets dépendants à des indices provoquant le désir de drogue. Ce circuit comprend le striatum, l'amygdale, l'aire tegmentale ventrale, les cortex antérieur (insulaire et préfrontal) le noyau accumbens, accompagnés dans certaines études de l'hippocampe (voir figure 13A ; pour revue : Jasinska et al., 2014). Des données très similaires ont été obtenues chez l'animal en réponse à la présentation d'indices associés à la prise de drogue par les mêmes techniques d'imagerie (IRMf du petit animal), ainsi que par de l'imagerie c-fos (Johnson et al., 2013; Liu et al., 2013; Lowen et al., 2015).

### **2.3.2. TSPT**

D'autres études se sont intéressées aux circuits activés lors des reviviscences induites par l'exposition à des indices associés au traumatisme (odeur, son..) qui conduisent les patients à revivre leur traumatisme avec intensité. Ces études montrent une hyperactivation systématique de l'amygdale (voir figure 13B ; pour revue : Goodman et al., 2012), ainsi que l'activation d'un circuit impliquant le cortex préfrontal médian, les cortex cingulaire et insulaire, et l'hippocampe (Rauch et al., 2006; Bremner, 2007; Carrión et al., 2010; Jovanovic et al., 2012). Quelques études mentionnent également l'implication du striatum dorsal (Osuch et al., 2008; Mickleborough et al., 2011). Les modèles animaux de TSPT ont également mis en évidence l'activation de ces mêmes structures (pour revue : (Whitaker et al., 2014)), notamment du cortex préfrontal médian (Tulogdi et al., 2012), de l'amygdale et de l'hippocampe (Ritov et al., 2014), de l'aire tegmentale ventrale et du locus coeruleus (Olson et al., 2011).

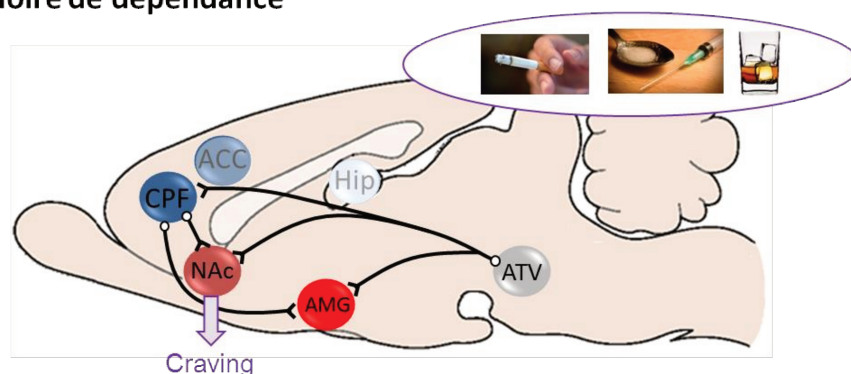
### **2.3.3. Réactivation mnésique**

Plus généralement, nous avons vu que l'exposition à des indices de rappel permet la réactivation du souvenir associé (voir section A.I.3.1). Des études réalisées au sein de l'équipe ont montré que la présentation d'indices de rappel d'un apprentissage de discrimination lumineuse en situation d'évitement réalisé chez l'animal active un réseau structural qui comprend l'amygdale, le cortex préfrontal, le striatum et l'axe corticotrope, ainsi que la plupart des systèmes de neuromédiateurs (voir figure 13C, Botreau et al., 2004; Boujabit et al., 2003; Gisquet-Verrier, 2009; Gisquet-Verrier et al., 2004).

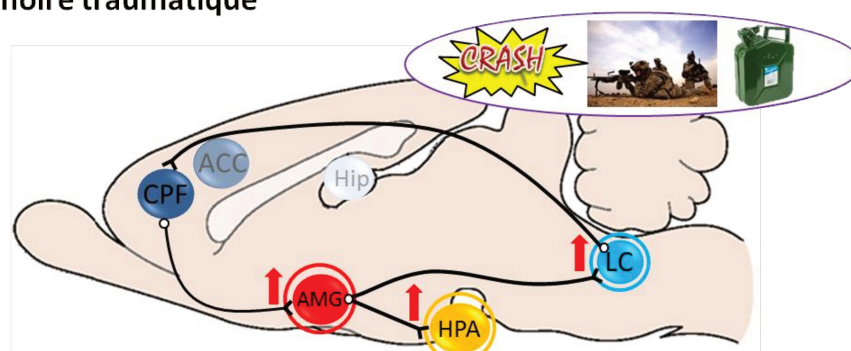
Bien qu'il n'y ait pas un recouvrement parfait entre les circuits activés dans les trois situations mentionnées, on peut cependant constater qu'un circuit limbo-cortico-striatal joue un rôle déterminant lors de la réactivation des souvenirs qu'ils soient « normaux » ou hors normes, comme les souvenirs de drogue et de traumatisme.

## Circuit réactivation mnésique induite par :

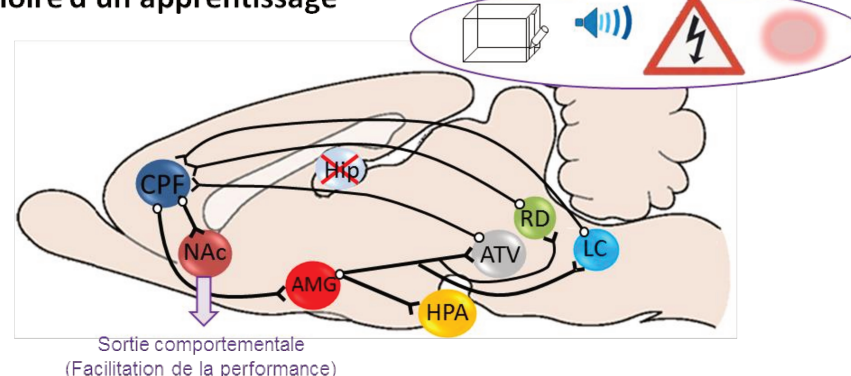
### A- Mémoire de dépendance



### B- Mémoire traumatique



### C- Mémoire d'un apprentissage



**Figure 13 : Réactivation mnésique : implication d'un circuit limbo-cortico-striatal**

(A) La présentation d'indices associés à la prise de drogue conduit à un désir irrésistible de drogue (craving), et induit une activation de l'aire tegmentale ventrale (ATV), de l'amygdale (AMG), du cortex préfrontal (CPF), ainsi que du noyau accumbens (NAc). (B) La présentation d'indices associés au traumatisme conduit à des reviviscences du traumatisme et s'accompagne d'une activation de l'amygdale (AMG) et du cortex préfrontal médian ainsi que d'une activation du système noradrénergique (via le Locus caeruleus LC), et de l'axe corticotrope (HPA). (C) La présentation d'indices associés à un apprentissage facilite la performance de rétention et entraîne l'activation de l'amygdale (sans activation de l'hippocampe) et de l'axe hypothalamo-hypophysaire (HPA), ainsi que des systèmes de neuromédiateurs (ATV, LC et RD) qui convergent tous vers le cortex préfrontal et le noyau accumbens (NAc).



### 3. Découplage des systèmes monoaminergiques dans l'addiction

Un processus physiologique mis en évidence dans un modèle animal d'addiction avec expositions répétées aux drogues d'abus pourrait rendre compte de l'hyperréactivité aux indices de rappel. Il s'agit du découplage des systèmes monoaminergiques.

#### 3.1. Implication des systèmes noradrénergique et sérotoninergique dans la sensibilisation comportementale

Comme nous l'avons expliqué précédemment (section A.III.1.3), la sensibilisation comportementale implique plusieurs structures cérébrales, et notamment le CPFm, l'ATV et le NAc.

Il a été démontré que l'expression de la sensibilisation comportementale (augmentation de la locomotion) est le reflet la libération de DA dans le noyau accumbens (Di Chiara and Imperato, 1988). L'explication couramment admise est que, chez des animaux sensibilisés, les neurones dopaminergiques de l'ATV présentent une augmentation d'excitabilité (Kalivas and Duffy, 1993; Parsons and Justice, 1993), conduisant à une libération plus importante de DA au niveau du NAc (en réponse à une injection de drogue), ce qui correspond à une sensibilisation neurochimique, responsable de l'augmentation de l'activité locomotrice, c'est à dire de la sensibilisation comportementale (Robinson et al., 1988; Johnson and Glick, 1993; Shoaib et al., 1994).

Il a été proposé initialement que la drogue agissait directement sur l'ATV puisqu'en bloquant le système dopaminergique avec un antagoniste D1 (SCH23390), on n'observait plus d'expression de la sensibilisation comportementale (Vezina, 1996). Cependant cet agent pharmacologique possède également une composante agonistique 5-HT<sub>2A</sub>, et l'injection d'un antagoniste 5-HT<sub>2A</sub> conjointement à cet antagoniste D1 restaure l'expression de la sensibilisation (Lanteri et al., 2008). Ces résultats montrent une participation du système sérotoninergique dans la sensibilisation comportementale. D'autres études corroborent l'importance de la composante sérotoninergique dans ce phénomène : d'une part, la stimulation des récepteurs 5-HT<sub>2A</sub> potentialise la libération de DA dans le NAc (Kuroki et al., 2003). D'autre part, le blocage de ces récepteurs par l'injection d'un antagoniste (SR46349B), en systémique ou dans l'ATV, empêche l'expression de l'augmentation locomotrice (Auclair et al., 2004a), ainsi que la sensibilisation dopaminergique dans le NAc si l'injection est effectuée dans l'ATV. Comme l'injection de ce même antagoniste des

récepteurs 5-HT<sub>2A</sub> dans le CPF ne diminue ces sensibilisations que partiellement, un autre système doit interagir avec le système sérotoninergique dans ces phénomènes de sensibilisation.

Si cet antagoniste 5-HT<sub>2A</sub> est injecté dans un modèle murin dont le récepteur alpha-1b est absent (KO  $\alpha$ 1-b), les sensibilisations comportementale et dopaminergique sont complètement bloquées (Auclair et al., 2004b), suggérant l'implication du système noradrénergique. Cette hypothèse est appuyée par le fait que l'injection en systémique ou dans le CPF d'un antagoniste des récepteurs alpha-1b adrénergiques, la prazosine, diminue l'activité locomotrice en réponse à l'injection d'amphétamine, ainsi que le développement de la sensibilisation comportementale révélée par une injection de psychostimulant (Darracq et al., 1998; Drouin et al., 2001; Auclair et al., 2004b; Salomon et al., 2006). De plus, des lésions sélectives des efférences du LC corticales préviennent la sensibilisation dopaminergique dans le NAc (Ventura et al., 2003, 2005) en réponse à une injection de psychostimulant, indiquant que le phénomène de sensibilisation comportementale nécessite un lien entre le LC et le CPF. Toutes ces données montrent l'implication des systèmes NA et 5-HT dans la sensibilisation neurochimique de dopamine dans le NAc, et dans sa conséquence locomotrice exprimée par la sensibilisation comportementale.

L'équipe de J.P. Tassin s'est intéressée de plus près à ces interactions et notamment aux sorties corticales du locus coeruleus et du raphé dans les processus de sensibilisation. LC et raphé projettent tous deux au sein du cortex préfrontal médian et l'administration répétée de drogues de différentes classes (amphétamine, cocaïne, alcool, morphine) induit des augmentations de libération de noradrénaline et de sérotonine au niveau du CPF (Lanteri et al., 2008). Ces auteurs montrent que l'expression de la sensibilisation comportementale est fortement corrélée à l'amplitude des sensibilisations noradrénergique et sérotoninergique (Salomon et al., 2006; Lanteri et al., 2008). Ils ont également mis en évidence la coopération des récepteurs alpha1b et 5-HT<sub>2A</sub> dans ces phénomènes : si l'injection de chacun de leurs antagonistes (5-HT<sub>2A</sub> : SR46349B ; alpha1b : prazosine) induit une diminution de 80% de l'activité locomotrice générée par l'injection de psychostimulants, la combinaison des deux la bloque complètement (Salomon et al., 2006; Lanteri et al., 2008). De plus, l'absence d'un des récepteurs, alpha1b ou 5-HT<sub>2A</sub>, induit une sensibilisation respectivement du système sérotoninergique ou du système noradrénergique (Salomon et al., 2006, 2007), indiquant que ces deux systèmes monoaminergiques interagissent, notamment par le biais des récepteurs alpha1b et 5-HT<sub>2A</sub>. Plus récemment, cette équipe a

montré que ces sensibilisations monoaminergiques sont corrélées à l'altération à long terme des voies de signalisation des autorécepteurs alpha2A adrénrgiques et 5-HT1A (Doucet et al., 2013). Ainsi, les injections répétées de drogue induisent une désensibilisation fonctionnelle de ces récepteurs, sans diminution de la densité membranaire de ceux-ci. Chez des animaux injectés répétitivement aux drogues d'abus, cette désensibilisation de ces autorécepteurs qui ont une action inhibitrice sur les systèmes noradrénrgiques et sérotoninergiques, a comme conséquence de diminuer le rétrocontrôle inhibiteur, et donc de permettre les libérations massives de NA et 5-HT en réponse à une injection aigue de psychostimulant.

### 3.2. Hypothèse de découplage et validité

Pour résumer, l'équipe de J.P. Tassin propose que des injections répétées de drogue induisent des sensibilisations noradrénrgique et sérotoninergique au sein du CPFm, responsables de la sensibilisation dopaminergique dans le NAc conduisant à une sensibilisation comportementale, en réponse à une injection de psychostimulant. Les sensibilisations conjointes de NA et 5-HT résulteraient d'une dérégulation des contrôles qu'exercent les systèmes noradrénrgique et sérotoninergique l'un sur l'autre. Ainsi, l'administration répétitive de drogue d'abus serait à l'origine d'un découplage des systèmes noradrénrgique et sérotoninergique qui signerait le maintien à long terme de la pathologie de la dépendance aux drogues d'abus.

#### 3.2.1. Autocontrôles des systèmes noradrénrgique et sérotoninergique

Comme nous allons le voir, l'existence de régulations entre systèmes noradrénrgique et sérotoninergique est étayée par de nombreuses données de la littérature (Krystal and Neumeister, 2009).

#### **Le système noradrénrgique agit sur l'activité sérotoninergique.**

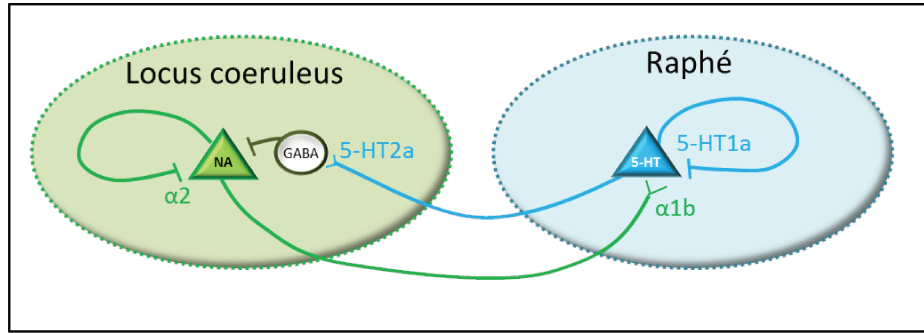
Des efférences du Locus Cœruleus, via le faisceau dorsal, ont été décrites projetant au niveau du noyau du raphé (Loizou, 1969; Chu and Bloom, 1974; Sara, 2009), structure où l'on retrouve également l'expression des récepteurs adrénrgique alpha1 et alpha2 (Unnerstall et al., 1985). L'activation des récepteurs alpha1 exerce une action excitatrice sur le raphé, stimulant la libération de 5-HT par le raphé (Mongeau et al., 1997), alors que celle des alpha2 ont une action inhibitrice sur le raphé qui réduit de l'activité sérotoninergique (Pudovkina et al., 2003). Il a été montré que des injections d'agonistes alpha1 ou

d'antagonistes alpha2 qui induisent des augmentations de NA, ont pour conséquence d'augmenter l'activité des neurones sérotoninergiques du raphé dorsal (Garratt et al., 1991; Samuels and Szabadi, 2008). A l'inverse, des injections d'agonistes alpha2 ou d'antagonistes alpha1 ont pour effet de réduire la libération de NA et de supprimer l'activité excitatrice des neurones sérotoninergiques (Svensson et al., 1975; Baraban and Aghajanian, 1980). L'activation des récepteurs alpha2 dépend bien des neurones noradrénergiques du locus coeruleus puisqu'elle n'est plus observée en cas de lésion de ces neurones. De plus, il a été montré que l'inhibition de l'activité sérotoninergique par les antagonistes alpha1 provient bien de l'activation directe des neurones noradrénergiques et n'implique pas d'interneurones GABAergiques (Clement et al., 1992).

### **Le système sérotoninergique agit sur l'activité noradrénergique.**

Des terminaisons sérotoninergiques se retrouvent dans le LC (Azmitia and Segal, 1978), et plus particulièrement au niveau des dendrites des neurones noradrénergiques (Pickel et al., 1977; Lu et al., 2012), avec une forte expression des récepteurs 5-HT<sub>2A</sub>, et également au niveau au niveau d'interneurones GABAergiques (Gorea et al., 1991; Li et al., 2004). La stimulation des récepteurs 5-HT<sub>2A</sub> induit une diminution de l'activité spontanée des neurones noradrénergiques du LC (Aghajanian, 1980; Clement et al., 1992), en activant des interneurones GABAergiques, puisque le blocage de GABA dans le LC prévient cet effet (Gorea et al., 1991; Szabo and Blier, 2001a). Ces données indiquent donc que l'action de la 5-HT sur le système noradrénergique passe par des interneurones inhibiteurs.

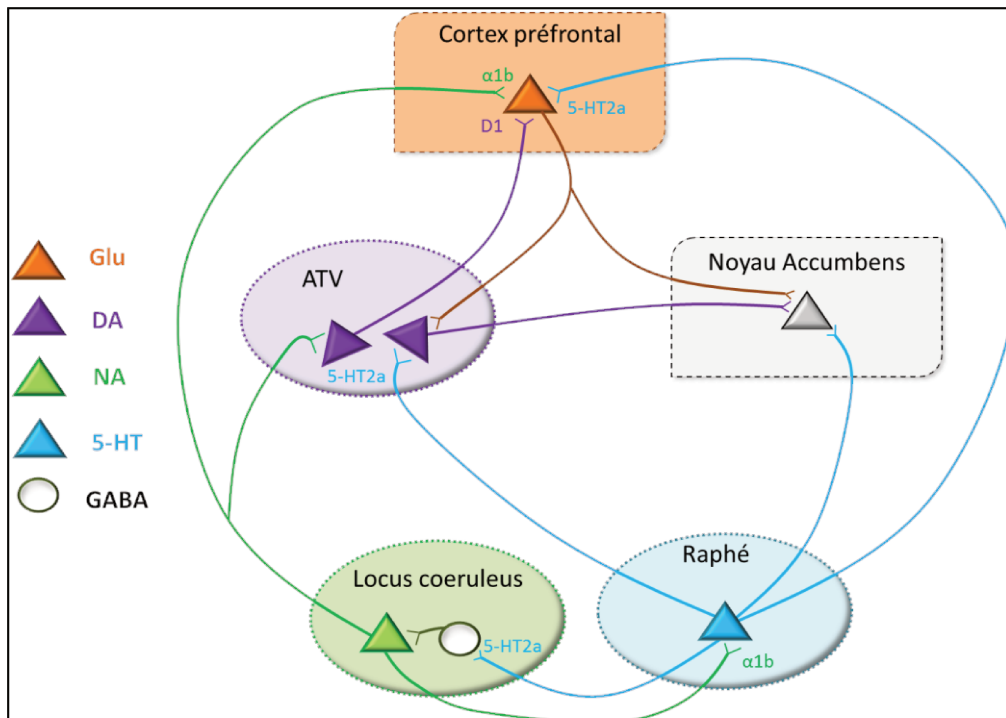
Par ailleurs, si l'activation des récepteurs 5-HT<sub>1A</sub> stimule les neurones du LC (Clement et al., 1992), leur activation ne module plus l'activité noradrénergique après lésion du raphé (Szabo and Blier, 2001a) et l'injection d'un agoniste 5-HT<sub>1A</sub> dans le LC proprement dit n'a pas d'effet (Gorea et al., 1991), suggérant que l'effet des 5-HT<sub>1A</sub> passe par le noyau du raphé. En opposition, l'injection d'un antagoniste 5-HT<sub>1A</sub> a lui pour effet de supprimer l'activité spontanée des neurones du LC, mais cet effet est aboli par l'injection conjointe d'antagonistes 5-HT<sub>2A</sub>. Il semble donc que l'action des 5-HT<sub>2A</sub> soit plus importante que l'action des autorécepteurs 5-HT<sub>1A</sub>, sur l'activité du LC (Haddjeri et al., 1997; Szabo and Blier, 2001b), suggérant qu'ils agissent en aval des 5-HT<sub>1A</sub>. En effet, les 5-HT<sub>1A</sub> sont en réalité des autorécepteurs qui inhibent l'activité du raphé, alors que les 5-HT<sub>2A</sub> sont des récepteurs post-synaptiques, activant la neurotransmission GABAergique via les interneurones (figure 14).



**Figure 14 : Régulations entre les systèmes noradrénergique et sérotoninergique**

### Couplage des systèmes monoaminergiques

Les données présentées ci-dessus indiquent que les systèmes noradrénergique et sérotoninergique sont capables de se contrôler l'un l'autre : quand l'un des systèmes est activé, l'autre système intervient pour tempérer cette activation. Ces données soutiennent l'idée d'un couplage monoaminergique (Tassin, 2008b ; voir figure 15).

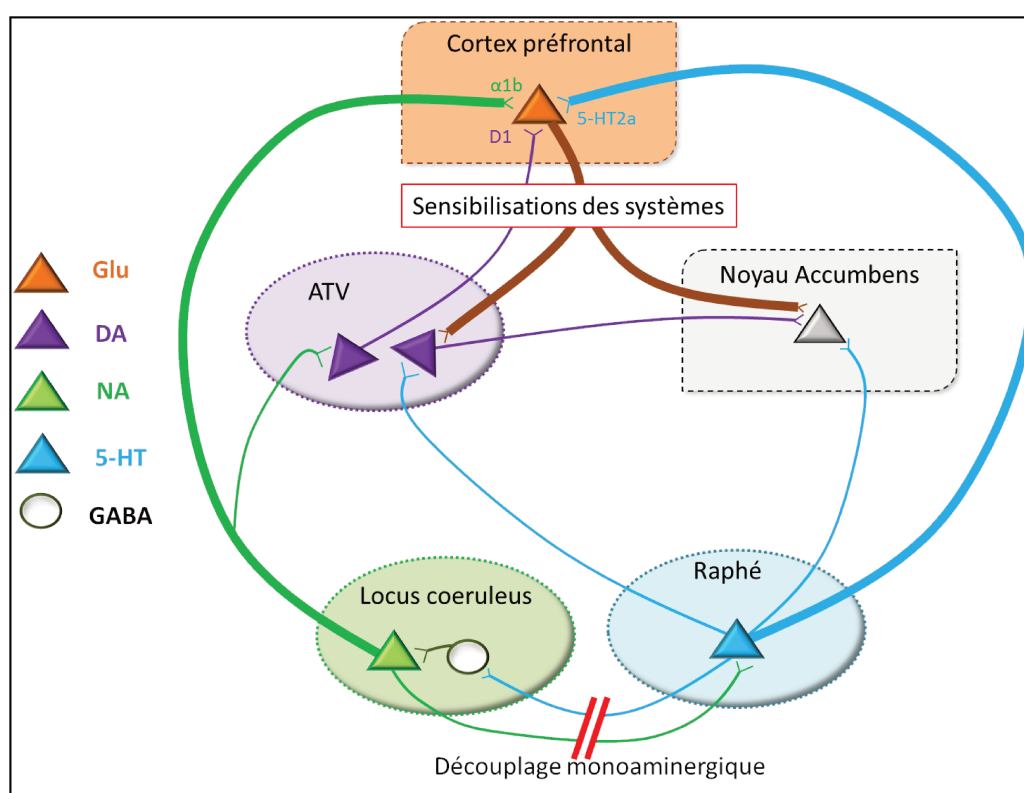


**Figure 15 : Schéma des interactions entre les trois systèmes de neurotransmetteurs monoaminergiques (d'après Tassin, 2008).**

Les neurones noradrénergiques et sérotoninergiques innervent des aires corticales ainsi que des noyaux mésencéphaliques. Le locus cœruleus contrôle le raphé dorsal grâce aux récepteurs alpha1b-adrenergiques alors que le raphé dorsal contrôle le locus cœruleus par les récepteurs 5-HT2a. Le découplage résulterait de la perturbation de cette interaction réciproque. De plus, des cellules corticales pyramidales glutamatergiques projettent au niveau subcortical sur le nucleus accumbens et au niveau mésencéphalique sur l'aire tegmentale ventrale (ATV) dopaminergique.

### 3.2.2. Découplage monoaminergique

Tassin et son équipe constatent des libérations massives de NA et de 5-HT dans le CPFm (sensibilisation neurochimique) lors de stimulations trop intenses induites par des injections répétées de drogue, qui vont induire des libérations de glutamate dans l'ATV (Marek and Aghajanian, 1999). La neurotransmission glutamatergique va conduire à des augmentations de la libération de dopamine au niveau du NAc, responsables des augmentations de l'activité locomotrice des animaux (sensibilisation comportementale). Ils font l'hypothèse que ces dérégulations traduisent une perte de l'autorégulation entre NA et 5-HT dans de telles conditions, conduisant à un découplage des systèmes monoaminergiques (Lanteri et al., 2008; Tassin, 2008).



**Figure 16 : schéma expliquant l'hypothèse de découplage dans le modèle d'exposition répétée aux drogues**

*La perte d'autocontrôle entre les systèmes noradrénergique via le locus cœruleus et sérotoninergique via le raphé induit une libération massive de ces neurotransmetteurs au sein du cortex préfrontal médian.*

Ce découplage, conséquence d'injections répétées de drogue d'abus, est un phénomène stable qui se maintient à long terme (plus d'un mois : Salomon et al., 2006b). Pour ses auteurs, le découplage permet d'expliquer le maintien de la consommation de drogue chez

la personne dépendante, parce que la prise de drogue va permettre un recouplage artificiel et temporaire des systèmes monoaminergiques. Outre le maintien de consommation, le découplage, qui semble se maintenir à long terme même en l'absence de prise de drogue, permettrait aussi d'expliquer les forts taux de rechute observés après sevrage chez des patients dépendants.

#### 4. Intérêts de l'hypothèse de découplage pour le TSPT

L'augmentation importante de la libération de monoamines au sein du cortex préfrontal médian qui résulte du découplage est intéressante car elle pourrait expliquer l'hyper réactivité des sujets aux stimuli associés à la prise de drogue.

##### 4.1. Découplage et hyper réactivité aux indices de rappel

Il a été montré que la présentation de stimuli associés à un renforcement (positif ou négatif), comme des stimuli conditionnels ou discriminatifs, s'accompagne d'une libération de NA dans le CPFm (Feenstra, 2000). De plus, un certain nombre de données suggère que ces augmentations sont nécessaires à la réactivation des souvenirs (Sara and Devauges, 1989; Devauges and Sara, 1991). Ainsi, en cas de découplage dû à la consommation répétée de drogue, l'exposition à des indices de rappel va induire des libérations accrues de NA qui pourraient être responsables de la réactivation du souvenir de drogue et du désir intense de drogue (craving) des sujets dépendants qui est à l'origine des fréquentes rechutes. Ainsi le découplage permet d'expliquer l'hyperréactivité aux indices rappelant la prise de drogue. En parallèle et en lien avec nos hypothèses, nous avons vu que le TSPT s'accompagne également d'une hyperréactivité aux indices de rappel, suggérant qu'un découplage monoaminergique puisse prendre place après exposition à un traumatisme.

##### 4.2. Interaction entre indices de rappel et monoamines

De nombreuses données de la littérature vont dans le sens d'une interaction entre exposition aux indices de rappel et libération de monoamines.

###### **4.2.1. Modulation de la sensibilisation comportementale par l'exposition à des indices de rappel**

L'exposition au contexte dans lequel la drogue a été administrée, amplifie la sensibilisation comportementale en réponse à une injection de psychostimulant (Hinson and Poulos, 1981; Post et al., 1981; Vezina and Leyton, 2009). Des expositions répétées à des

indices associés à la prise de drogue (sans délivrance de drogue) ont pour effet de diminuer les réponses instrumentales conduisant à la drogue. Cette extinction du conditionnement s'accompagne également d'une diminution de la réponse de sensibilisation (Hinson and Poulos, 1981). Une étude récente de l'équipe a montré qu'une sensibilisation comportementale pouvait s'exprimer non seulement en réponse à une injection de psychostimulant, mais aussi en réponse à une exposition des animaux à des indices associés aux injections répétées de drogues, comme une odeur et un son (Toledano and Gisquet-Verrier, 2016). Ces données suggèrent un rôle clé des indices de rappel dans l'induction et l'expression de la sensibilisation comportementale observée après injections répétées de drogues, par l'intermédiaire de la libération de monoamines et plus particulièrement la noradrénaline.

#### **4.2.2. Modulation de la libération de NA et modulation des reviviscences**

La yohimbine (antagoniste alpha2 adrénergique), qui stimule la libération de NA, a été utilisée pour provoquer des rechutes après exposition à un indice de rappel, dans des modèles animaux d'addiction (Feltenstein and See, 2006; Zaniewska et al., 2015). Chez l'homme, ce même agent pharmacologique est capable d'induire des attaques de panique, et de favoriser des reviviscences intenses chez des sujets TSPT, ainsi que l'expression de symptômes associés au trouble de stress post traumatique comme le sursaut, et surtout l'évitement d'indice (Southwick et al., 1993; Morgan et al., 1995; Bremner et al., 1997a). A l'inverse, la réduction de l'activité NA par l'injection de clonidine (un agoniste alpha2) diminue les taux de rechute lors de la présentation d'indices associés à la prise de drogue ainsi que la fréquence des cauchemars chez des sujets TSPT (Zaniewska et al., 2015). L'injection de prazosine, antagoniste alpha1 réduit l'effet de l'exposition à des indices associés au traumatisme en diminuant la peur chez l'animal (Raskind et al., 2003; Do Monte et al., 2013), ainsi que la détresse psychologique associée (Taylor et al., 2006).

#### **4.2.3. Exposition aux indices de rappel et libération de NA**

Comme nous l'avons vu, les reviviscences, le craving et les rechutes semblent être associés à la libération de NA. La rencontre de stimuli associés au traumatisme pourrait ainsi induire des augmentations de la libération de noradrénaline. Chez des vétérans de guerre souffrant de troubles de stress post traumatique, la présentation d'indices auditifs associés à l'événement traumatique (bruits de combat, hélicoptères, cris) induit la libération de NA mise en évidence au niveau sanguin et augmente la fréquence cardiaque. Ces modifications



ne sont pas présentes chez des vétérans non TSPT (Blanchard et al., 1991). Il a été montré que des femmes ayant subi des abus sexuels présentent des taux de NA urinaires qui sont corrélés avec la force de leurs reviviscences (Lemieux and Coe, 1995). Toutes ces données suggèrent donc que l'exposition à des indices de rappel pourrait, en activant le système noradrénergique, être responsable de reviviscences/craving et rechutes dans le TSPT et l'addiction.

#### **4.2.4. Exposition aux indices et sérotonine**

D'autres données suggèrent que la sérotonine, une autre monoamine impliquée dans la sensibilisation comportementale, pourrait également être impliquée dans l'hyperréactivité aux indices dans les deux pathologies. La metha-chlorophenylpiperazine (mCPP), est un agoniste des récepteurs 5-HT qui se fixe préférentiellement sur les récepteurs 5-HT<sub>2C</sub>, et qui a pour effet d'augmenter les taux de sérotonine dans les régions frontales. Il a été montré que cet agent pharmacologique induit également des reviviscences et des attaques de panique chez des patients TSPT (Southwick et al., 1997).

### **4.3. Données sur la possibilité d'un découplage dans le TSPT**

Afin de faire un parallèle entre TSPT et addiction sur le découplage, nous avons recherché des données portant sur les récepteurs noradrénergiques et sérotoninergiques (alpha 1b et 5-HT<sub>2A</sub>) impliqués dans les sensibilisations neurochimiques résultantes de la prise de drogues d'abus. L'exposition à différents types de stress, comme parler en public chez l'homme ou l'exposition au froid, une immobilisation et des pincements à la queue chez l'animal, a pour effet d'augmenter les taux de NA, notamment dans le cortex préfrontal, l'amygdale et l'hippocampe (Tanaka et al., 1991; Robertson et al., 2013). On remarque cependant que la libération de NA en réponse à un stress est plus importante, dans ces trois mêmes structures, si l'analyse est effectuée chez des animaux modèles du TSPT par rapport à des individus contrôles (Kao et al., 2015; Rajbhandari et al., 2015). Ces données suggèrent ainsi que l'exposition à des indices associés à un événement traumatique pourrait induire une sensibilisation neurochimique.

Les études sur les récepteurs adrénergiques indiquent que l'action des récepteurs alpha1 et alpha2 adrénergiques est à l'origine de la libération de NA dans le CPF (Arnsten et al., 2015). De plus, l'exposition à un stress chronique a pour effet d'activer les récepteurs alpha2 (Jedema et al., 2008; Reyes et al., 2012) et d'augmenter la disponibilité du transporteur de la

noradrénaline (NET) dans le CPFm (Krystal and Neumeister, 2009). Des animaux modifiés génétiquement pour ne pas exprimer le récepteur adrénérgique alpha2A (KO alpha2A) ont une immobilité plus importante dans un test de nage forcée, indiquant une augmentation des comportements dépressifs, montrant ainsi l'importance des récepteurs alpha2A dans les comportements anxieux. Il semble néanmoins qu'en temps normal, avec des taux modérés de NA dans le CPF, ce neurotransmetteur se fixe préférentiellement au récepteurs alpha2A qui ont une grande affinité pour le NA, mais des taux trop importants, comme en condition de stress vont conduire à diminuer les fonctions corticales via les récepteurs alpha1 qui ont une plus faible affinité (Ramos and Arnsten, 2007). Ces données indiquent donc le rôle important des récepteurs alpha1 dans les pathologies du stress.

Concernant les récepteurs sérotoninergiques, des animaux n'exprimant pas le récepteur 5-HT1A sont plus anxieux que les animaux sauvages (Ramboz et al., 1998), alors que l'activation de ce récepteur dans l'amygdale a un effet anxiolytique (Akimova et al., 2009). On retrouve d'ailleurs une plus faible disponibilité des 5-HT1A chez des individus anxieux (Akimova et al., 2009), indiquant l'importance de ce récepteurs dans les réponses au stress. Cependant, on remarque que la diminution des transporteurs à la sérotonine (SERT) dans l'amygdale et l'augmentation des liaisons 5-HT1A sont corrélés avec une augmentation des symptômes du trouble de stress post traumatique (Frick et al., 2015). On retrouve en effet des augmentations de 5-HT1A dans le raphé dans les modèles animaux du TSPT (Harvey et al., 2003; Harada et al., 2008; Luo et al., 2011), ainsi qu'une augmentation de l'affinité pour les 5-HT2A dans le CPF (Vermetten and Bremner, 2002; Harvey et al., 2003; Luo et al., 2011). De plus, l'application d'un antagoniste 5-HT1A inhibe les effets induits par le SPS, comme l'augmentation des GR et CRH (Pitman et al., 2012), et une diminution d'expression des récepteurs 5-HT2A chez des rats stressés a également été mise en évidence (Jiang et al., 2009).

Le stress a donc pour effet d'augmenter la libération des catécholamines dans le CPFm (Thierry et al., 1976; Goldstein et al., 1996), structure où les sensibilisations neurochimiques ont été obtenues après injections répétées de drogue. De plus, l'interaction ou couplage des systèmes noradrénergique et sérotoninergique a été soulignée chez l'homme par différentes équipes, notamment Sulser (Sulser, 1987) parlant de « 5-HT/norepinephrine link » et Geraciotti (Geraciotti et al., 1997), révélant une corrélation inverse importante entre ces deux systèmes, via l'analyse des taux moyens de NA et 5-HIAA (métabolite de la 5-HT) dans le liquide céphalo-rachidien chez des volontaires sains. Cette

dernière étude révèle également que cette corrélation n'est plus retrouvée chez des patients dépressifs, pathologie ayant des forts taux de comorbidités avec le TSPT, suggérant qu'elle pourrait se retrouver chez des sujets atteints de trouble de stress post traumatique également.

#### 4.4. Interaction drogue/stress et sensibilisation croisée

En plus d'avoir de nombreux points communs, drogue et stress sont très liés ; si le stress est un facteur de risque à la prise de drogue (Sinha, 2008), on sait que la consommation de drogue modifie également l'axe du stress, avec des sécrétions modulées de glucocorticoïdes ou d'ACTH (Galici et al., 2000; Wand et al., 2007). On sait aussi que des injections répétées de drogue induisent une sensibilisation dopaminergique dans le NAc, et des données de la littérature indiquent des effets similaires après un stress sur le long terme. En effet, un stress amplifie la prise de drogue en augmentant la transmission dopaminergique mésolimbique (Piazza and Le Moal, 1998), ayant pour conséquence l'augmentation des taux de dopamine dans le NAc (Kalivas and Stewart, 1991; Piazza et al., 1996). Cette augmentation dopaminergique dans le NAc est d'ailleurs potentialisée par une injection de drogue après un stress aigu ou chronique (Kalivas and Stewart, 1991; Cruz et al., 2012; Garcia-Keller et al., 2013), or comme nous l'avons déjà souligné, le taux de DA dans le NAc influence la locomotion, et plus particulièrement la sensibilisation comportementale. Des sensibilisations croisées ont d'ailleurs déjà été obtenues entre drogue et stress. Chez l'animal, des stress répétés, que ce soit suite à des contentions, des chocs électriques, des défaites sociales ou des séparations maternelles, induisent une sensibilisation locomotrice révélée par une injection d'amphétamine (Herman et al., 1984; Meaney et al., 2002; Nikulina et al., 2004; Dietz et al., 2008; Cruz et al., 2012). Des stress aigus induits par une contention, une défaite sociale ont révélés ce même phénomène de sensibilisation en réponse au psychostimulant sur des tests réalisés que quelques jours après le stress. (Díaz-Otañez et al., 1997; de Jong et al., 2005). Seule une étude a obtenu une sensibilisation à la cocaïne 3 semaines après un stress unique, suggérant un effet à long terme, mais la vulnérabilité au traumatisme n'a pas été prise en considération (Garcia-Keller et al., 2013).

Toutes ces données indiquent une interaction entre drogue et stress, en particulier sur les libérations de monoamines et sur les sensibilisations comportementales, indiquant la possibilité d'obtenir ces phénomènes chez des sujets atteints de trouble de stress post traumatique.

## IV – Objectifs de la Thèse

### 1. Hypothèses

Bien que la dépendance aux drogues d'abus et le trouble de stress post traumatique soient deux pathologies d'étiologies très différentes, nous avons présenté des arguments indiquant qu'elles présentaient un certain nombre de ressemblances et en particulier, leur grande susceptibilité aux indices environnementaux. Nous faisons l'hypothèse qu'un mécanisme commun pourrait être à l'origine de l'hyper-réactivité aux indices de rappel conduisant à des réactivations mnésiques correspondant soit des reviviscences intenses de l'événement traumatique, soit à des désirs irrépessibles de drogue dans le cas de l'addiction et dans les deux cas l'évitement des stimuli associés au souvenir cible. Pour ces deux pathologies, TSPT ou addiction, l'hyper-sensibilité aux indices de rappel pourrait être responsable des forts taux de rechutes qui leur sont associés.

L'équipe de J.P. Tassin, étudiant la dépendance à travers le modèle animal de sensibilisation comportementale, propose que la prise répétée de drogue d'abus supprime l'autocontrôle existant entre les systèmes noradrénergique et sérotoninergique (Tassin, 2008), rendant ces systèmes hyperréactifs à toute stimulation.

Nous avons fait l'hypothèse qu'un découplage monoaminergique pourrait également être impliqué dans la dérégulation de la réactivation mnésique qui accompagne le trouble de stress post traumatique. Pour valider cette hypothèse, il convient de montrer que les modifications caractéristiques du découplage observées après injections répétées de drogue d'abus peuvent être retrouvées après un traumatisme.

Pour valider cette hypothèse, plusieurs étapes sont nécessaires :

- il faut trouver un bon modèle de troubles de stress post traumatique, capable de n'avoir de conséquences que chez une partie des animaux exposés et permettant de reproduire les principaux symptômes décrits chez l'homme,

- il faut montrer que les animaux traumatisés sont hyper sensibles aux indices de rappel du traumatisme et étudier leur rôle dans le développement de la pathologie,

- il faut démontrer qu'un traumatisme s'accompagne d'une sensibilisation neurochimique des systèmes noradrénergiques et sérotoninergiques, c'est à dire des augmentations de la libération de ces monoamines au niveau de l'aire pré-limbique du cortex préfrontal médian, en réponse à une injection de psychostimulant,

- il faut démontrer qu'un traumatisme s'accompagne d'une sensibilisation comportementale, c'est à dire une augmentation de la locomotion, mise en évidence en réponse à une activation de ces systèmes par une injection de psychostimulant.

## 2. Validité du SPS en tant que modèle animal du TSPT

Le Single Prolonged Stress ou SPS (Liberzon et al., 1997) est un modèle dont le protocole est bien défini (voir section A.II.5.1), permettant une utilisation standardisée à travers le monde. Il repose sur une littérature riche concernant les modifications comportementales et physiologiques qu'il induit.

Le SPS doit répondre à quatre critères pour être considéré comme valide et transposable au TSPT chez l'homme (Anisman and Matheson, 2005) : la validité étiologique, de représentation, de construction et prédictive.

### 2.1. Validité étiologique (Etiological validity).

Dans le SPS, les animaux sont exposés à un stress intense et prolongé, représentant un événement traumatique comparable à ce qui provoque le trouble de stress post-traumatique chez l'homme, répondant ainsi au critère de validité étiologique.

### 2.2. Validité de représentation (Face validity).

Bien que centraux dans la pathologie, les symptômes d'intrusion (critère B), c'est à dire la présence de reviviscences, de cauchemars ou de flashbacks ne sont pas réellement mesurable chez l'animal. Cependant des réponses de peur ont été obtenues lors de la présentation d'indices de rappel, comme un son associé au SPS (Toledano and Gisquet-Verrier, 2014). Nous avons montré que certains agents pharmacologiques connus pour induire des reviviscences chez l'homme, comme la Yohimbine ou le mCPP, augmentent les réponses de peur des animaux traumatisés (voir section A.III.4.2.4).

Un autre symptôme important est l'évitement des stimuli associés au traumatisme (critère C). De tels évitements ont été obtenus avec un son et une odeur associés au SPS (Toledano and Gisquet-Verrier, 2014). Des altérations de la cognition et de l'humeur (critère D) ont également été rapportées. Plus précisément, des augmentations de l'anxiété mesurées par divers tests comportementaux ont été obtenues après exposition au SPS (Imanaka et al., 2006; Wang et al., 2008; Ganon-Elazar and Akirav, 2012; Serova et al., 2013; Toledano and Gisquet-Verrier, 2014), ainsi que des altérations cognitives comme un déficit de la mémoire spatiale (Kohda et al., 2007) et des perturbations de la reconnaissance d'un

objet (Eagle et al., 2013). Des déficits d'extinction après un conditionnement de peur ont également été observés chez des rats mâles (George et al., 2015; Zer-Aviv and Akirav, 2016) comme chez des rats femelles (Zer-Aviv and Akirav, 2016 ; mais voir Keller et al., 2015). L'anhédonie, qui est aussi une des caractéristiques du critère D, a été observée récemment (Enman et al., 2015), ainsi qu'un émoussement des affects, mis en évidence par une augmentation de l'immobilité pendant un test de nage forcée (Serova et al., 2013) et par une augmentation de la peur conditionnée au contexte (Iwamoto et al., 2007; Kohda et al., 2007; Harada et al., 2008; Yamamoto et al., 2010; Takei et al., 2011).

Concernant les altérations de l'éveil et de la réactivité (critère E), elles ont été mises en évidence par des augmentations d'amplitude de sursaut, qui témoignent d'une hypervigilance (Khan and Liberzon, 2004; Kohda et al., 2007; Serova et al., 2013). Il faut préciser que dans nos conditions expérimentales, nous observons des diminutions d'amplitude de sursaut (Toledano et al., 2013) qui ont également été rapportées chez l'homme (Medina et al., 2001; Klorman et al., 2003) et chez l'animal (Conti and Printz, 2003; Gonzales et al., 2008) après un stress chronique ou des chocs électriques. Les discussions menées dans ces différents articles suggèrent que le symptôme d'altération de l'éveil peut se modéliser par des modifications de la réactivité, que ce soit par une augmentation ou par une diminution en fonction des conditions expérimentales (voir aussi Toledano et al., 2013). Des troubles du sommeil ont également été mis en évidence récemment chez des animaux SPS (Nedelcovych et al., 2015; Vanderheyden et al., 2015).

Enfin, notre équipe a reproduit avec ce modèle, une des caractéristiques majeures du TSPT : les troubles ne se développent que chez une partie des sujets exposés. En effet, en utilisant des critères portant sur différents symptômes, une étude a montré qu'un pourcentage de rat de l'ordre de 37% pouvait être considéré comme vulnérables (Toledano and Gisquet-Verrier, 2014). Ce pourcentage est comparable à ceux observés chez les sujets humains exposés à un traumatisme.

L'ensemble de ces données montre qu'après exposition au SPS, les animaux présentent des modifications des comportements représentatifs des symptômes de type TSPT, conférant au SPS une validité de représentation.

### 2.3. Validité de construction (Construct validity)

Les structures cérébrales impliquées dans le TSPT chez l'homme sont l'hippocampe, l'amygdale et le cortex préfrontal. Chez des animaux exposés au SPS, on retrouve des modifications anatomiques et fonctionnelles de ces trois mêmes structures. En effet, il a été montré que le SPS induit une augmentation de l'apoptose neuronale dans l'hippocampe et dans le cortex préfrontal (Li et al., 2010, 2013), pouvant induire une diminution volumique de ces deux structures comparable à celle observée chez l'homme. Une hypertrophie de l'amygdale, avec une augmentation de son arborisation dendritique (plus particulièrement dans le noyau central), pouvant témoigner de la forte activité de l'amygdale retrouvée chez des sujets TSPT, a été rapportée (Cui et al., 2008).

On retrouve également un hypocortisolisme et un rétrocontrôle négatif de l'axe corticotrope augmenté chez des patients atteints de trouble de stress post traumatique. Ces caractéristiques sont retrouvées chez le rat après exposition au SPS, avec une modification de la régulation de l'axe corticotrope (Harvey et al., 2003; Uys et al., 2006; Kohda et al., 2007), un rétrocontrôle négatif augmenté (Liberzon et al., 1997; Kohda et al., 2007; Cui et al., 2008; Toledano et al., 2013), une augmentation du taux de CRH (Sabban et al., 2015) et une diminution de l'ACTH hypophysaire (Yoshii et al., 2008). L'augmentation des GR, rapportée chez l'homme, se retrouve également chez l'animal exposé au SPS, au niveau du cortex préfrontal (Knox et al., 2012; George et al., 2015) et de l'hippocampe des rats mâles (Liberzon et al., 1999b) et femelles (Keller et al., 2015a).

Chez les patients TSPT, on observe en condition basale une augmentation de l'activité noradrénergique avec des taux de NA élevés dans le liquide céphalo-rachidien, une augmentation de l'activité dopaminergique avec des taux de DA urinaires élevés et une augmentation du taux de glutamate, notamment dans l'hippocampe. A l'opposé, les systèmes GABAergique et sérotoninergique sont diminués notamment dans le cortex, l'hippocampe et le thalamus pour le GABA, et des diminutions de recapture de 5-HT dans les plaquettes sanguines ont été rapportées. Dans le SPS, des variations comparables de ces neurotransmetteurs sont observés, avec une réduction du niveau de GABA dans l'hippocampe (Harvey et al., 2004b), et des augmentations de noradrénaline et de dopamine hippocampique, mesurés par chromatographie liquide à haute performance dans les structures entières (Harvey et al., 2006). Après SPS, on observe cependant une diminution

du niveau de glutamate dans le cortex préfrontal ventro-médian (Knox et al., 2010) et des augmentations de sérotonine hippocampique (Harvey et al., 2006).

L'ensemble de ces données indique qu'après exposition au Single Prolonged Stress, on observe des modifications anatomiques, fonctionnelles et neurochimiques, comparables à celles observables chez des patients TSPT, suggérant que les mêmes mécanismes sont impliqués chez l'homme comme chez l'animal après exposition à un traumatisme, répondant ainsi à la validité de construction.

## 2.4. Validité prédictive (Predictive validity)

Les rats soumis au SPS doivent répondre aux traitements qui ont montré une efficacité chez des patients TSPT, à savoir en priorité les ISRS.

Le traumatisme induit par le SPS est sensible à divers traitements et en particulier aux ISRS. La fluoxétine et la paroxétine permettent de réduire l'anxiété induite par le SPS (Wang et al., 2008), de restaurer la régulation du récepteur 5-HT<sub>1A</sub> (Harvey et al., 2004), et d'empêcher l'augmentation de la peur conditionnée au contexte (Takahashi et al., 2006). Par ailleurs, les études réalisées sur le modèle du SPS montrent l'efficacité de nouveaux traitements pouvant potentiellement diminuer les symptômes de TSPT chez l'homme. Ainsi, l'infusion intranasale de neuropeptide Y délivrée avant le SPS ou juste après celui-ci prévient certaines modifications induites par le traumatisme telles que les augmentations de l'immobilité dans un test de nage forcée, de l'anxiété, de l'amplitude du sursaut, du taux de corticostérone, de la densité des récepteurs GR dans l'hippocampe et de l'expression de la tyrosine hydroxylase après un stress (Serova et al., 2013).

L'ensemble des données obtenues sur des animaux exposés au SPS indique que ce modèle répond à tous les critères de validité et qu'il est capable de reproduire de nombreuses caractéristiques observables chez des sujets atteints de trouble de stress post traumatique. Cela permet donc de valider l'utilisation de ce modèle dans nos expérimentations aux vues de nos problématiques.

## 3. Résumé des données déjà obtenues dans l'équipe

### 3.1. Sensibilisation comportementale et réactivité à la nouveauté

Avant cette étude, l'équipe a obtenu un certain nombre de résultats allant dans le sens de notre hypothèse postulant des mécanismes communs entre TSPT et dépendance. Il a été montré que des rats exposés au SPS peuvent exprimer une sensibilisation



comportementale en réponse à une injection d'amphétamine (Toledano et al., 2013). Cette sensibilisation n'est pas obtenue sur l'ensemble des animaux et n'a pu être mise en évidence qu'en considérant le trait de réactivité à la nouveauté, trait également impliqué dans la sensibilité aux drogues (Piazza et al., 1989). Les données indiquent qu'à partir de 15 jours après le traumatisme, les animaux classifiés comme LR sur leur réactivité à la nouveauté expriment une sensibilisation comportementale en réponse à une injection de psychostimulant (amphétamine 1mg/kg), alors que les animaux classifiés comme HR vont exprimer une désensibilisation comportementale, c'est-à-dire une diminution de la locomotion par rapport aux rats non traumatisés (contrôles ; Toledano et al., 2013). Des résultats comparables ont été obtenus lorsque ce trait est pris en compte lors d'injections massées et répétées d'amphétamine : une sensibilisation pour les animaux LR, et une désensibilisation pour les animaux HR (Toledano and Gisquet-Verrier, 2016). Cette ressemblance entre les données obtenues dans des modèles animaux de TSPT et d'addiction est renforcée par d'autres résultats montrant l'implication du système noradrénergique dans la sensibilisation comportementale. Si une injection de clonidine est effectuée pendant l'exposition au SPS ou à des injections répétées de drogue, les sensibilisations comportementales effectués lors de tests ultérieurs ne sont plus retrouvées (Doucet et al., 2013; Toledano et al., 2013). Ces données indiquent que des sensibilisations comportementales peuvent s'exprimer après des expositions à des drogues d'abus ou après un traumatisme et que dans les deux conditions, elles sont dépendantes du système noradrénergiques. Ces résultats montrent bien le parallélisme existant entre drogue et traumatisme, et renforcent nos hypothèses.

Notre hypothèse postule que l'activation naturelle des systèmes monoaminergiques est induite par l'exposition à des indices associés aux drogues ou au traumatisme. Ainsi, il devrait être possible de montrer que de telles expositions induisent une augmentation de l'activité locomotrice témoignant d'une sensibilisation comportementale. L'équipe a pu mettre en évidence un phénomène de ce type après présentation d'indices associés à la prise de drogue ( Toledano and Gisquet-Verrier, 2016; voir aussi Polston et al., 2011).

### 3.2. Mise en évidence de différences individuelles

Comme l'expression de la sensibilisation comportementale est dépendante du trait de réactivité à la nouveauté après exposition au SPS (Toledano et al., 2013), l'équipe s'est demandée si les symptômes de type TSPT développés par les animaux SPS étaient

également dépendants de ce trait comportemental. Les résultats obtenus sur des tests mesurant l'anxiété, l'hypervigilance ou l'évitement d'indice ont permis de montrer que les animaux SPS ne réagissent pas tous de la même façon après exposition au SPS. Seule une partie des animaux, considérés comme vulnérable au traumatisme, développe des symptômes de type TSPT. L'autre partie des animaux ne développe pas de symptômes et se comportent comme des animaux non traumatisés, et sont classés comme résilients au traumatisme (Toledano and Gisquet-Verrier, 2014).

### 3.3. Remodelage émotionnel

Une des études réalisées par l'équipe a montré qu'une injection d'amphétamine chez des rats traumatisés était capable de réduire à la fois la réactivité aux indices et les symptômes induits par le traumatisme (Toledano and Gisquet-Verrier, 2014). Les auteurs ont analysé leurs résultats en termes de remodelage émotionnel du souvenir traumatique. Dans cette étude, des rats traumatisés ont reçu une injection d'amphétamine avant d'être réexposés à la salle où s'est déroulé le SPS. Les auteurs proposent que l'injection d'amphétamine permet de placer l'animal dans un état positif, juste avant la réactivation du souvenir traumatique. On sait qu'un souvenir réactivé est malléable et qu'il peut intégrer de nouvelles informations. Les auteurs suggèrent que cette manipulation pourrait permettre d'associer le traumatisme à la valence émotionnelle présente au moment de la réactivation du traumatisme et ainsi réduire son caractère pathologique. Si intéressantes qu'elles soient, ces données restent spéculatives et doivent être complétées afin d'étayer la validité du remodelage émotionnel comme traitement efficace à long terme du TSPT.

## 4. Objectifs & Stratégies

L'objectif de cette thèse est de poursuivre la validation de l'hypothèse de l'existence de bases communes entre TSPT et dépendance aux drogues d'abus. L'ensemble de cette étude a été réalisé en utilisant un modèle animal de traumatisme. Notre premier objectif a été de mettre au point une technique nous permettant d'évaluer la vulnérabilité des animaux exposés au traumatisme afin de pouvoir comparer les animaux vulnérables à des animaux résilients et aux animaux contrôles.

Ce travail s'est développé autour de trois axes de recherche abordant :

(1) le rôle des indices de rappel dans le TPST et notamment dans le développement et le maintien des symptômes,

(2) la mise en évidence d'un découplage monoaminergique après exposition au SPS,  
(3) l'étude du remodelage émotionnel comme nouvelle voie thérapeutique pour le traitement à long terme du TSPT.

#### 4.1. Axe 1 : Rôle des indices de rappel dans le TSPT

Comme nous l'avons vu au cours de cette introduction, les reviviscences tiennent un rôle central dans le TSPT et celles-ci sont souvent déclenchées par la rencontre du sujet traumatisé avec des événements associés au traumatisme. Cependant, la réactivité à ces événements a été relativement peu abordée dans la littérature. On sait que les éléments les plus saillants, comme les stimuli conditionnels dans un conditionnement de peur sont capables d'évoquer des réponses de peur, mais aucune étude comparative, prenant en compte différents types d'indices n'a encore été entreprise. Cette étude est d'autant plus importante que nos hypothèses suggèrent une hyperréactivité à ces indices. De plus, cette étude va permettre de croiser la vulnérabilité des animaux au traumatisme avec leur réactivité aux indices (publication n°1).

Nous avons également voulu aborder le rôle que ces indices pourraient avoir dans le développement de la pathologie. En effet, quelques études ont montré que des expositions répétées à des indices associés à un événement aversif pouvaient amplifier les symptômes d'anxiété ou d'aversion d'un contexte (Pynoos et al., 1996; Inda et al., 2011). Compte tenu de nos hypothèses, il nous a semblé intéressant d'étudier l'effet des réexpositions à des indices associés au SPS, capables d'induire des réactions de peur chez nos animaux, sur la force des symptômes de type TSPT (publication n°2).

#### 4.2. Axe 2 : Recherche d'un découplage monoaminergique après exposition au SPS

Si comme notre hypothèse le propose, l'exposition à un traumatisme induit un découplage des systèmes monoaminergiques, nous devrions pouvoir mettre en évidence une sensibilisation comportementale et une sensibilisation neurochimique chez les rats vulnérables au traumatisme. L'étude de la sensibilisation neurochimique est la partie centrale de ma thèse. Toutes nos hypothèses reposent sur l'existence d'une augmentation de la libération de monoamine au sein du cortex préfrontal médian, en réponse à une stimulation de ces systèmes. Cette étude a nécessité la mise en œuvre de techniques de microdialyse qui n'étaient pas présentes au laboratoire. La collaboration avec Frédéric

Chauveau pour le recueil des dialysats et avec Jean-Pol Tassin pour leurs analyses a été nécessaire pour la réalisation de cette étape. Nos hypothèses sur l'importance des indices de rappel dans la pathologie nous ont également conduits à rechercher une sensibilisation, non seulement en réponse à une injection de psychostimulant, mais aussi en réponse à l'exposition à des indices de rappel du traumatisme. De plus, si le mécanisme de découplage monoaminergique est bien à responsable de l'hyperréactivité aux indices, alors il devrait être possible d'établir un lien entre ces sensibilisations et la présence des symptômes chez les individus traumatisés (publication n°3).

#### 4.3. Axe 3 : Recherche de nouveaux traitements thérapeutiques pour le TSPT

Le TSPT est une pathologie lourde, qui s'étend sur de nombreuses années et qui n'a jusqu'à présent pas de traitements spécifiques ayant démontré leurs efficacités à long terme. Les traitements actuels ne montrent souvent qu'une efficacité sur une des composantes du TSPT et non sur la totalité des symptômes. Sur la base de nos hypothèses de travail et des résultats de l'équipe, nous proposons une nouvelle approche thérapeutique visant à agir sur le souvenir pathologique. La stratégie consiste à tenter de diminuer l'impact du souvenir traumatique sur l'individu, en modifiant sa composante émotionnelle. Pour se faire, nous avons d'abord montré la possibilité de modifier le souvenir associé au SPS chez nos animaux traumatisés, soit en le renforçant, soit en le diminuant (publication n°4). Dans un second temps, nous avons montré que le remodelage émotionnel associé à un traitement pharmacologique judicieux peut permettre de diminuer voire d'abolir durablement les symptômes de type TSPT (publication n°5).



# RESULTATS



# I – Traumatisme : conséquences, vulnérabilité et rôle des indices de rappel

## 1. Vulnérabilité au TSPT et réactivité aux indices de rappel

### ***Publication n°1***

---

**La sensibilité aux indices de rappel associés au traumatisme est restreinte aux rats traumatisés vulnérables et est rétabli - après extinction- par la Yohimbine.**

---

*Claire Le Dorze, Pascale Gisquet-Verrier*

#### 1.1. But de l'article

D'après nos hypothèses, les animaux traumatisés devraient présenter une réactivité aux indices environnementaux présents au moment du traumatisme. Cependant, très peu d'études se sont intéressées à cet aspect qui pourrait se révéler essentiel dans le développement de la pathologie et aucune ne l'a croisé avec la vulnérabilité des animaux. Comme nous l'avons mentionné, hypermnésie et amnésie semblent être des symptômes du TSPT. Il est donc important de déterminer si tous les indices présents dans notre situation sont pris en compte et si la réactivité aux indices est modulée par des facteurs de résilience/vulnérabilité. Nous avons donc quantifié les réponses de peur ou d'évitement lorsque les animaux traumatisés étaient mis en présence d'indices associés au traumatisme. Cette analyse tient compte de la vulnérabilité au SPS déterminée par la présence de symptômes de type TSPT. Dans les études portant sur l'addiction, il a été montré qu'après une extinction, l'activation du système noradrénergique par la Yohimbine, un antagoniste des récepteurs alpha2 adrénergique, permettait de restaurer la recherche de drogue. Dans cet article, nous avons utilisé de la yohimbine après l'extinction des réponses de peur à un indice de rappel afin d'étudier si l'activation du système noradrénergique pouvait les restaurer.



## 1.2. Que fait l'article

Dans les modèles animaux du TSPT, peu d'études différencient les animaux traumatisés en résilients et vulnérables, alors que cette distinction est essentielle. Cet article explore la possibilité de trouver une méthode fiable permettant le classement des animaux en vulnérables ou résilients après un SPS. Pour valider cette méthode nous avons recherché quels tests comportementaux devaient être pris en compte pour que les animaux identifiés comme vulnérables le soient aussi dans d'autres tests comportementaux. Une fois notre méthode validée, nous avons étudié la réactivité des rats traumatisés aux différents indices de rappel pouvant être identifiés dans notre situation. Ces indices sont des contextes dans lesquels les animaux sont exposés pendant le SPS, comme le tube de contention, la piscine de la nage forcée, ou la boîte où ils subissent le malaise au CO<sub>2</sub>. D'autre part, nous avons tenu compte des indices environnementaux, comme une odeur et un son qui ont été présent dans la pièce pendant le déroulement du SPS. Enfin, nous avons fait précéder le SPS d'un apprentissage d'évitement passif au cours duquel l'animal apprend à rester dans un compartiment blanc pour éviter un léger choc électrique, afin d'utiliser ce compartiment comme un indice prédictif du traumatisme.

## 1.3. Méthodes

Deux expériences ont été réalisées dans cette publication. Les animaux sont d'abord caractérisés sur la réactivité à la nouveauté, qui est un trait comportemental impliqué dans la compulsivité à la prise de drogue, et sur l'anxiété, qui semble être un facteur de vulnérabilité au développement du TSPT. Les rats sont ensuite soumis au SPS, consistant en 2 heures de contention, suivie de 20 min de nage forcée, et après une période de repos de 15 min, ils subissent un malaise au dioxyde de carbone. Pendant toute la durée du SPS, une odeur et un son sont présentés. Par ailleurs, un indice prédictif a été ajouté juste avant le SPS pour la première expérience, qui consiste à exposer les animaux à une boîte lumineuse. Après une période d'incubation de 15 jours, les animaux sont soumis à des tests comportementaux permettant de mesurer des symptômes de type TSPT et la réactivité aux indices associés au traumatisme. Les rats sont classés en vulnérables ou résilients au traumatisme à l'aide de 3 tests comportementaux permettant de mesurer l'anxiété et la vigilance. La fiabilité de la méthode est vérifiée à l'aide d'autres tests comportementaux comme l'anhédonie et l'évitement aux indices. Les résultats des tests sur les indices sont ensuite analysés sur les animaux contrôles et traumatisés résilients et vulnérables. La

réexposition multiple aux indices ayant induit une extinction des réactions de peur, nous avons recherché si la Yohimbine, un antagoniste des récepteurs alpha2 adrénergiques, induisant une libération de noradrénaline, pouvait rétablir ces réactions de peur chez les rats traumatisés.

#### 1.4. Principaux résultats

Sur nos animaux soumis au traumatisme, seule une partie (30%) des rats a été considéré comme vulnérable au traumatisme. Ces rats vulnérables peuvent être sélectionnés seulement à l'aide de 3 tests symptômes (anxiété et vigilance), permettant une classification simple, reproductible et efficace. Nous montrons que cette classification est validée par le fait que les animaux vulnérables sur les trois tests utilisés sont également vulnérables sur d'autres tests de symptôme du trouble de stress post traumatique, comme l'évitement d'indices et l'anhédonie.

Nos données montrent que seuls les rats vulnérables réagissent aux indices de rappel associés au SPS (contextuels, spécifiques, prédictifs) en montrant des réponses de peur et d'évitement.

Il est toutefois à noter que les rats ne réagissent pas forcément à tous les indices. En effet, ils n'expriment pas de réactions de peur à la boîte associée au malaise au CO<sub>2</sub>, en l'absence de carboglace, ou à la piscine de la nage forcée, en l'absence d'eau. Ces données suggèrent la possibilité d'amnésies après SPS pour certains indices spécifiques malgré l'hypermnésie des autres indices.

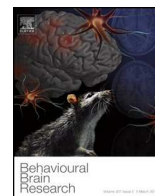
Après plusieurs expositions à l'odeur présente lors du traumatisme et 60 jours après celui-ci, les rats vulnérables ne réagissent plus à cet indice. Cependant, l'injection de Yohimbine, permet de restaurer les comportements de peur à l'odeur chez les rats vulnérables uniquement.

La rétro-analyse du profil des rats vulnérables, à l'aide des tests réalisés avant le SPS indique que le trait de réactivité à la nouveauté ne constitue pas un facteur de risque au développement du TSPT, au contraire de l'anxiété, puisque 80% des rats vulnérables étaient préalablement classés comme anxieux avant le SPS.

#### 1.5. Conclusion

Cet article propose une méthode de classification efficace et valide pour sélectionner les animaux vulnérables au SPS. Les rats vulnérables au traumatisme sont différents à la fois

des rats résilients et des rats contrôles qui ont des performances comparables. Seuls les rats vulnérables expriment des réponses de peur à la présentation d'indices associés à l'événement traumatique. Le système noradrénergique semble être impliqué dans la réactivité aux indices puisqu'une injection de Yohimbine peut rétablir des réactions de peur préalablement éteintes chez les animaux vulnérables.



## Research report

## Sensitivity to trauma-associated cues is restricted to vulnerable traumatized rats and reinstated after extinction by yohimbine



Claire Le Dorze, Pascale Gisquet-Verrier\*

Neuro-PSI, Université Paris-Sud, CNRS UMR9197, Université Paris-Saclay, Orsay, France

## HIGHLIGHTS

- Vulnerability of traumatized rats can be reliably assessed with three symptom tests.
- Vulnerable rats differ from Resilient or Control rats on all PTSD-like symptoms tests.
- Only Vulnerable rats demonstrated fear responses to trauma-associated cues.
- Yohimbine reinstated reactivity to an extinguished trauma odor in Vulnerable rats.

## ARTICLE INFO

## Article history:

Received 7 April 2016

Received in revised form 30 June 2016

Accepted 4 July 2016

Available online 5 July 2016

## Keywords:

Single prolonged stress (SPS)

PTSD-like symptoms

Vulnerability

Trauma-associated cues

Rat

## ABSTRACT

While post-traumatic stress disorder (PTSD) symptom is mainly characterized by re-experiencing the traumatic event, the reactivity to trauma-associated cues in resilient and vulnerable subjects has not been extensively studied. Using an animal model of PTSD induced by a single prolonged stress (SPS), the responses of traumatized Vulnerable and Resilient rats to PTSD-like symptom tests and to trauma-associated cues were investigated. In addition, the implication of the noradrenergic system in “re-experiencing” was explored. Rats received either a SPS, combining a 2 h restraint stress, a 20 min forced-swim followed by a 15 min rest, and a loss of consciousness produced by inhaling CO<sub>2</sub> emissions, delivered in the presence of particular cues (tone and odor), or a control procedure. PTSD-like symptoms and reactivity to various trauma-associated cues (specific, contextual, or predictive) were tested from D15 to D60 after the SPS. Rats were then divided into Resilient and Vulnerable on the basis of three main symptom tests, including the elevated plus maze, the light-dark and the acoustic startle response tests. Although Resilient rats behaved like Controls rats, Vulnerable rats developed long-term PTSD-like symptoms on the main symptoms tests (anxiety and alteration of arousal), as well as other PTSD-like outcomes (such as anhedonia and avoidance to trauma-associated cues). These Vulnerable rats were also the only ones to demonstrate strong reactivity to trauma-associated cues. In addition, the alpha-2 adrenergic receptor antagonist, Yohimbine (i.p., 1.5 mg/kg/ml), was able to reinstate fear responses to an extinguished trauma-associated odor. Our results established clear relationships between Vulnerability to trauma and reactivity to trauma-associated cues and further suggest an involvement of the noradrenergic system.

© 2016 Elsevier B.V. All rights reserved.

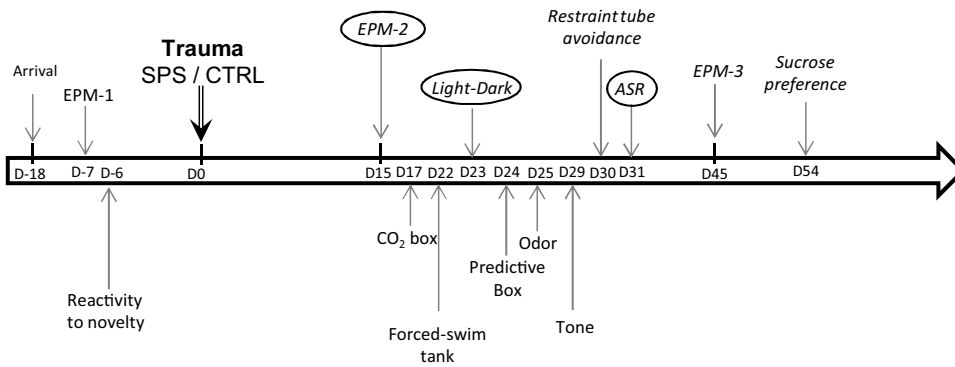
## 1. Introduction

Environmental cues play a determinant role in two pathologies presenting high rates of comorbidity: the post-traumatic stress disorder and the dependence on drugs of abuse. Trauma-associated

cues are known as powerful trauma-reminders [1–3] promoting intrusive re-experiencing of events, which is a core symptom of post-traumatic stress disorder (PTSD), and from which all the other symptoms may possibly derive [4–6]. On the other hand, drug associated cues are known to induce drug craving, a determinant aspect in the dependence to drug of abuse [7–11]. In both cases, environmental cues play a major role in the continuity of the pathologies and in the risk of relapse. Interestingly, brain imaging studies have reported that exposures to drug or trauma-associated cues increase the neuronal activity of largely overlapping brain circuitries [12,13].

\* Corresponding author at: Neuro-PSI, CNRS UMR9197, Bat 446, Université Paris-Sud, 91405 Orsay, France.

E-mail address: [pascale.gisquet@u-psud.fr](mailto:pascale.gisquet@u-psud.fr) (P. Gisquet-Verrier).



**Fig. 1.** Timeline of general protocol used in Experiment 1. Rats were first exposed to an elevated plus maze EPM and a reactivity to novelty test, before being exposed to a Single Prolonged Stress (SPS) or to a control procedure without the trauma (CTRL), on Day 0 (D0). After a two-week interval, rats received PTSD-like symptoms tests (above the timeline): EPM, Light-Dark, trauma-cue avoidance tested with the restraint tube, acoustic startle response (ASR) and anhedonia tested with sucrose consumption. Rats were also tested for their reactivity to trauma-associated cues (below the timeline): exposure to the CO<sub>2</sub> box, the forced-swim tank, the predictive box, the trauma-associated odor and tone. The three main symptom tests, used to determine trauma vulnerability, are surrounded by a circle.

In previous papers, we proposed to consider PTSD and drug addiction as two memory pathologies resulting from exposure to extreme events and characterized by high reactivity to contextual cues and possibly supported by similar physiological processes [6,14]. On the basis of results observed with drugs of abuse [15], we proposed that the drug and trauma, by deleting the mutual inhibition that noradrenergic and serotonergic systems exert on one another, induce the uncoupling of these systems. Accordingly, these systems become highly reactive, possibly accounting for their high sensitivity to contextual cues responsible for drug craving and re-experiencing, respectively. Supporting this view, exposure to significant events has been shown to increase noradrenaline release within the prefrontal cortex [16]. In addition, behavioral (locomotion) and neurochemical (NA release in PFC) sensitizations have been described when these systems were activated by psychostimulants in an animal model of drug addiction and PTSD [6,14,15,17]. In addition, pharmacological activation of the noradrenergic system by the alpha-2 adrenergic receptor antagonist, yohimbine, has been reported to potentiate cue-induced reinstatement of both cocaine- and heroin-seeking behaviors [18,19]. Furthermore, yohimbine has been reported to possibly trigger panic attack and re-experiencing in PTSD patients [20–22], but it is still unknown whether this drug can reinstate the reactivity to trauma-associated cues.

It is well known that trauma-associated cues induce fear reactions in PTSD patients as well as in animal models [23–28]. However, the relationship between the vulnerability to a traumatic experience and the reactivity to the trauma-associated cues which constitutes the basic tenet of our hypothesis has not been precisely investigated. This was the first aim of the present paper. For that purpose, we used a rat model of PTSD, the Single Prolonged Stress (SPS; [29]), known to induce PTSD-like symptoms, as well as a behavioral sensitization, in some of the traumatized rats [14]. In the first Experiment, symptoms and sensitivity to trauma-associated cues were explored in rats behaviorally characterized before being exposed to SPS or a control procedure. On the basis of the results obtained, rats were classified as trauma-Vulnerable or Resilient and their susceptibilities to different types of trauma-associated cues (specific, contextual, or predictive) were analyzed. According to our hypothesis, only Vulnerable rats should demonstrate high reactivity to trauma-related cues. Since increases in noradrenaline are considered to promote re-experiencing in humans [21,22], rats from Experiment 2 were then treated with yohimbine, in order to determine whether a direct release of NA can induce anxiety, mimicking re-experiencing, in Vulnerable and Resilient rats.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Animals

The subjects were 80 male Sprague Dawley rats weighing 250–275 g upon arrival, originating from Harlan Laboratories, France for the first experiment (Exp1, 48 rats) and Charles River Laboratories, France for the second experiment (Exp2, 32 rats). Rats were housed in pairs under a 12 h light/dark cycle (lights on at 07:30), with food and water available ad libitum. They were habituated to the colony room at least 14 days prior to the start of the experiment, then handled, numbered and weighed. All efforts were made to minimize the number of animals used and their discomfort. All experimental procedures were performed in the animals' light cycle and all behavioral tests were conducted between 9:00 am and 4:00 pm. All experiments were approved by the ethic committee "Ile-de-France" Paris 1 (ethics approval number 2012-0004) and in accordance with the European Communities Council Directive [2010/63/EU, 22 September 2010].

### 2.2. Drugs

Yohimbine (Sigma-Aldrich, Saint Quentin Fallavier, France) was dissolved in saline (0.9%) before use and injected intraperitoneally (i.p., 1.5 mg/kg/ml) 30 min before the behavioral tests.

### 2.3. Behavioral protocols

Before and after the SPS, rats were subjected to different behavioral tests as described in Figs. 1 and 5. During all the behavioral tests presented below, rats were returned to their home cages at the end of the test, and the experimental device was cleaned with a 70% ethanol solution, except for odor tests for which water was used.

#### 2.3.1. Video tracking system

A flexible video tracking system (ANY-maze™, Stoelting Co, Wood Dale, USA) was used for automated scoring in the different behavioral tests. A video camera was placed above or next to the apparatus and the information was relayed to a monitor in an adjoining room to score the behavior in real time. The software analyzed time and distance spent in each area of the elevated plus maze, open field and light-dark box.

Freezing was defined as the absence of all movement, except for respiration. The measure of freezing during trauma-associated

cues exposures was made manually, with the help of an ethologic key board on ANY-maze. All behavioral tests were done with an experimenter blind to the group conditions. To ensure the reliability of freezing measurement, experimenters were first trained with previous any-maze video tapes until their analyses match with the former ones. In addition, the main experimenter regularly checked the measurement through random rereading of experimental videotapes.

### 2.3.2. Behavioral tests

**2.3.2.1. Single prolonged stress (SPS).** During the SPS [29], each rat was first restrained for 2 h and then placed for 20 min in a water tank for a forced-swim. After a 15 min rest under a lamp, the rat was enclosed in a small chamber saturated in CO<sub>2</sub><sup>1</sup>, until loss of consciousness. SPS was delivered in the presence of additional cues (tone and odor) which were later used to reactivate the trauma.

In Exp1 only, rats were placed for 90 s in a white box, just before the SPS, in order to study the reactivity to a predictive cue. A tone was presented throughout SPS: a metronome pulsation (120 bpm) in Exp1, and a pink noise (20 Hz–20 kHz bandwidth; 80 dB) produced by a portable radio in Exp2. During the 2 h restraint period rats were placed in a transparent conical Plexiglas restriction container (restraint tube = 21 × 7.5 cm, in proximity to a piece of cotton wool soaked in acetophenone (Sigma-Aldrich, 5 μl) in Exp1, and lemon oil (citronenöl, SAFC, 100 μl) in Exp2. For the forced-swim, rats were placed in a water tank (57.5 cm of depth; 26.5 cm of diameter) filled two-thirds with water (26 ± 1 °C) in such a way that they were unable to rest by using their tails for support. In the last part of SPS, rats were enclosed in a small chamber (19.5 × 14 × 11.5 cm), saturated in CO<sub>2</sub> produced by dry ice, until loss of consciousness (45–50 s). Control rats (CTRL) were exposed to the same cues and apparatus as the experimental rats: they were first placed in a cage next to the restraint tube during the first 2 h, then in a swimming pool on a support (30 cm high) without water. After a 15 min rest in a cage under a lamp, they were put in the CO<sub>2</sub> box without dry-ice. All rats then remained for 15 days undisturbed in their home cages until the beginning of the experimental tests.

**2.3.2.2. PTSD-like symptom tests.** In the present paper, behavioral changes induced by SPS trauma have been termed “PTSD-like symptom tests” often referred to as “symptom tests”.

**2.3.2.2.1. Elevated plus maze test: anxiety (Exp1 & 2).** The level of anxiety of each rat was determined with the elevated plus maze (EPM) test. The EPM was constructed of black PVC, was 60 cm above the floor, and placed in a dimly lit room. Four arms (50 cm long and 11 cm wide, two open and two closed with 50 cm high walls) were arranged in a cross with two arms of the same type facing each other. At the start of the experiment the animal was placed in the center of the maze facing a closed arm and was free to explore the maze during a 5 min period. Eighty per-cent of the animal's full body entering an open (12 lx) or closed arm (2 lx) was considered an entry, while an exit was defined as an entry into another area. The relative percentage of time spent in the open arms, (time in the open arms/(time open arms + closed arms) × 100), was used as an index of anxiety [30,31], with a greater anxiety for a lower index.

**2.3.2.2.2. Circular corridor locomotor activity test: reactivity to a novel environment (Exp1 & 2).** Classification of High and Low responders (HR and LR) to a novel environment has been shown to influence the sensitivity to drug of abuse in rats [32]. Because we suspect a common basis for PTSD and drug addiction, rats were characterized for this behavioral trait, using a locomotor activity test performed in a circular corridor. Eight circular corridors

(Imetronic, Pessac, France) were constructed of black Plexiglas side-walls and stainless steel running platforms. The outside radius of the inner wall was 32 cm while the inside radius of the outer wall was 60 cm, producing a running corridor of 14 cm (light level around 25 lx inside). Four infrared beams were placed 5 cm above the floor, every 90°. The locomotor activity was counted when animals interrupted two successive beams and thus had travelled a quarter of the circular corridor. The number of quarter turns, recorded via a computer fitted with appropriate software, was determined during a one hour period and used as an index of locomotor activity.

**2.3.2.2.3. Light-dark test (LD): anxiety (Exp1 & 2).** The device (100 cm × 100 cm) was equally divided into 2 compartments: one brightly lit (60 lx) and the other dark (6 lx). The rat was placed in the dark side and was free to explore the apparatus during a 5 min period. Rats were considered to have entered a compartment when its entire body was in the compartment. The time spent in the lighted compartment was used as an index of anxiety (the less rats spent time in the lighted compartment, the more anxious they were).

**2.3.2.2.4. Open field test: anxiety (Exp1).** The open field (OF; 100 × 100 cm; only used in Exp2) was placed in a dimly lit room (15 lx). The rat was placed facing a wall and was free to explore the apparatus during a 5 min period. The path travelled by the rat was recorded. Rats were considered to have entered the central area (30 × 30 cm) when its entire body entered this area. The time spent in the central area was used as an index of anxiety (the less rats spent time in the central area, the more anxious they were).

**2.3.2.2.5. Acoustic startle response: arousal (Exp1 & 2).** The acoustic startle response (ASR) was used to evaluate the level of arousal [33]. Two startle chambers (Colombus instruments, Ohio, USA) were used. Each chamber (60 × 45 × 43 cm) included a ventilated, sound-attenuated lighted box providing a 68 dB background noise and contained a Plexiglas box (29 × 16.5 × 25 cm) equipped with a speaker and fitted with a piezoelectric accelerometer. In order to restrict movements during the test, rats were placed in a wire mesh cage (20 × 13 × 8 cm) enclosed in the Plexiglas box. The ASR session began with a 5 min period of acclimatization, followed by a series of five white noise sounds (1 dB; 20 ms; 20 s inter-sound intervals) to define the baseline. Trials consisted of 30 consecutive presentations of 30 ms, 115 dB sounds (white noise), delivered over a 16 min period with a variable inter-sound intervals (mean = 20 s). The startle response (in mV) was calculated by subtracting the baseline (in grams) from the peak amplitude. In our conditions, SPS has been shown to lead to a significant decrease of the startle response (for a discussion, see [6]).

**2.3.2.2.6. Restraint tube avoidance: trauma-cue avoidance (Exp1 & 2).** Rats were placed in the open field (previously described) containing the restraint tube used during SPS, and a novel object (Lego form: 20 × 7.5 cm). The time spent to explore each of the two objects was evaluated during a 5 min period using Anymaze. The location of the two objects was switched after every 5 rats.

**2.3.2.2.7. Odor avoidance: trauma-cue avoidance (Exp2).** Avoidance of the trauma-associated odor (only used in Exp2) was conducted in a Y-maze apparatus constructed of black PVC and comprising of three arms (40 × 17 × 21.5 cm). A piece of filter paper soaked in 5 μl of peppermint oil (new odor) was placed under the grids of one of the arms and lemon oil (trauma-associated odor) was placed under the grids of the other arm, while the third arm was closed. Each rat was placed in the center of the maze with its head directed toward the closed-arm, and left to freely explore the maze for 5 min. Time spent in each section of the maze during the test was recorded automatically with the Any-maze system. An entry was recorded when 80% of the animal's full body entered an arm. At the end of the test, rats were returned to their home cage. Time

<sup>1</sup> CO<sub>2</sub> was used instead of ether, prohibited by French authorities. As assessed by preliminary experiments, CO<sub>2</sub> exposure alone did not alter symptom tests.

spent in the arms containing the trauma-associated odor and the new odor served as an index of avoidance.

**2.3.2.2.8. Sucrose preference: anhedonia (Exp1).** The sucrose preference test (only used in Exp1) has been used extensively to assess motivational state in rodents, including stress-induced anhedonia [34] revealed by a reduction in sucrose preference [35,36]. This symptom test relied on the natural preference for water plus sucrose over water alone in normal rats. After a water deprivation (30 min water access per day during two consecutive days), rats were placed in a cage equipped with two bottles, one filled with water and the other with a solution 15% of sucrose. The consumption of each fluid was recorded for 30 min.

**2.3.2.2.9. Locomotor activity: depressive-like behavior (Exp1 & 2).** Trauma-induced decrease in locomotor activity has been reported in several studies using animal models of PTSD and analyzed in terms of depressive-like behavior [37–39]. ANY-Maze recordings were thus used to determine the distance travelled by the rats during the different behavioral tests (EPM, LD, OF and objects exploration), and a z-score transformation was then applied on the locomotor activity before statistical analyses.

### 2.3.3. Fear reactivity to trauma-associated cues

Freezing was recorded during the whole duration of the tests when rats were exposed to different trauma-associated cues.

In the present study, three types of cue have been considered:

- *Specific trauma-associated cues* related to the different devices in which rats were placed during the SPS: the CO<sub>2</sub> box, the water tank used during the forced-swim, and the restraint tube.

- *Contextual trauma-associated cues*: stimuli that were present during the whole duration of the trauma such as a tone and an odor.

- *Trauma-predictive cue*: a white box in which rats were placed just before the SPS, creating temporal contiguity between this cue and the trauma (only in Exp1, [40]).

**2.3.3.1. CO<sub>2</sub> box (Exp1 & 2).** Rats were placed for 90 s in the CO<sub>2</sub> box used for the SPS day placed in a dimly lit room (15 lx).

**2.3.3.2. Forced-swim tank (Exp1 & 2).** Rats were placed on a 30 cm-high × 26 cm diameter support in the water tank used during the SPS for 3 min. Percent freezing during this time-period was used to evaluate reactivity to the forced-swim tank. In Exp1, the support was filled with 2 cm of water (26 ± 1 °C).

**2.3.3.3. Trauma-associated odor (Exp1 & 2).** The present test was administered in two 90 s-sessions taking place in a dimly light beige PVC box (22 × 21 × 49 cm). During the first session, rats were simply placed in the box, and during the second session (same day in Exp1 and the day after in Exp2), the box was filled with the SPS-associated odor for 90 s.

**2.3.3.4. Trauma-associated tone (Exp1 & 2).** The reactivity to trauma-associated tone was tested in two sessions, using a PVC box (the same as during the odor test in Exp2, and a different box (35 × 23 × 12 cm) in Exp1). During the first session, rats were simply placed in the box with a 68 dB background noise. During the second session occurring just after the first session (Exp1) or the next day (Exp2), the SPS-associated tone was delivered during 90 s.

**2.3.3.5. Predictive box: the white box (Exp1).** The reactivity to a predictive cue was investigated by returning the rats to the white box during a 60 s test [40].

### 2.3.4. Yohimbine test (Exp2)

For this test, each group was divided into two subgroups, one of which received a saline injection (i.p., 0.9%), while the other

received Yohimbine (i.p., 1.5 mg/kg/ml). Rats received their injection in the SPS experimental room and were returned to the colony room for 30 min. They were then tested for their reactivity to the SPS-associated odor (using a box with black and white striped walls differing from the one used during the first odor test) for a 90 s period. On the next day, Saline and Yohimbine conditions were reversed in the different subgroups, and rats were tested again with an odor test.

## 2.4. Behavioral characterization

### 2.4.1. Before the trauma: for CTRL vs SPS group determination

At the beginning of each experiment, rats performed an EPM (D-7) and a reactivity to novelty tests (D-6; see Figs. 1 and 5). Each rats were then classified as “anxious” or “non anxious” depending on whether they were above or below the median anxiety score obtained in the EPM. In the same way, rats were classified as “Low Responder” or “High Responder” depending on whether they were below or above the median locomotor activity score obtained in the reactivity to novelty test. Rats were then divided into two groups matched for their level of anxiety and of reactivity to novelty. One group was exposed to the SPS procedure (SPS group), while the other group served as control group (CTRL group).

### 2.4.2. After the trauma: for resilient vs vulnerable determination

At the end of all the behavioral tests, traumatized rats were separated into Resilient and Vulnerable on the basis of three main symptom tests: two exploring anxiety, the Light-Dark and the Elevated Plus Maze, and one testing arousal: the Acoustic Startle Response. According to a previous study [14], a rat was considered to demonstrate a PTSD-like symptom when its performance differed by one standard deviation (SD) from the mean level of the performance obtained by the CTRL group for the Light-Dark test and ½ SD for EPM and ASR tests (SD magnitude was determined on the basis of the performance distribution). Rats exhibiting two or three symptoms were considered as Vulnerable (SPS-V), while the remaining rats were considered as Resilient (SPS-R). Results obtained for the other symptom tests as well as for the cue reactivity tests were then analyzed in CTRL, SPS-R and SPS-V rats.

### 2.4.3. Resilient and vulnerable rats profile

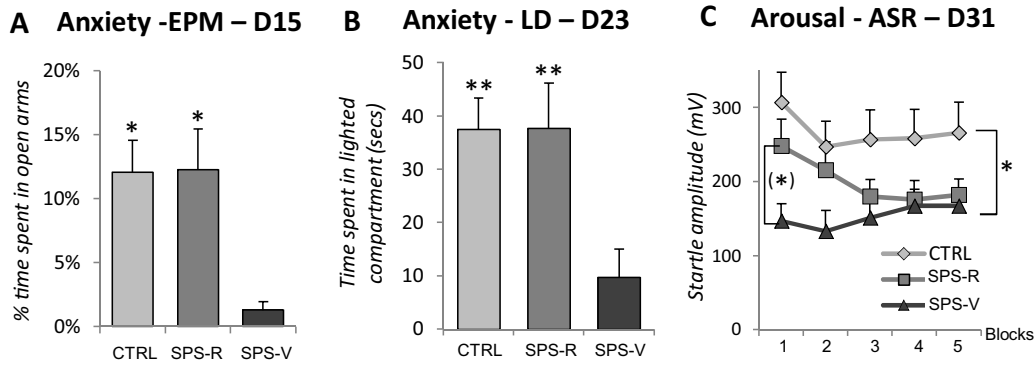
To determine the behavioral profile of Resilient and Vulnerable rats, backward analyses were performed at the end of behavioral tests to determine, in Resilient and Vulnerable rats, the percentage of Anxious and Non Anxious rats (Exp1 & 2) before the trauma, as well as the percentage of HR and LR rats (Exp1 & 2), and to investigate changes in locomotor activity (Exp2).

## 2.5. Statistical analyses

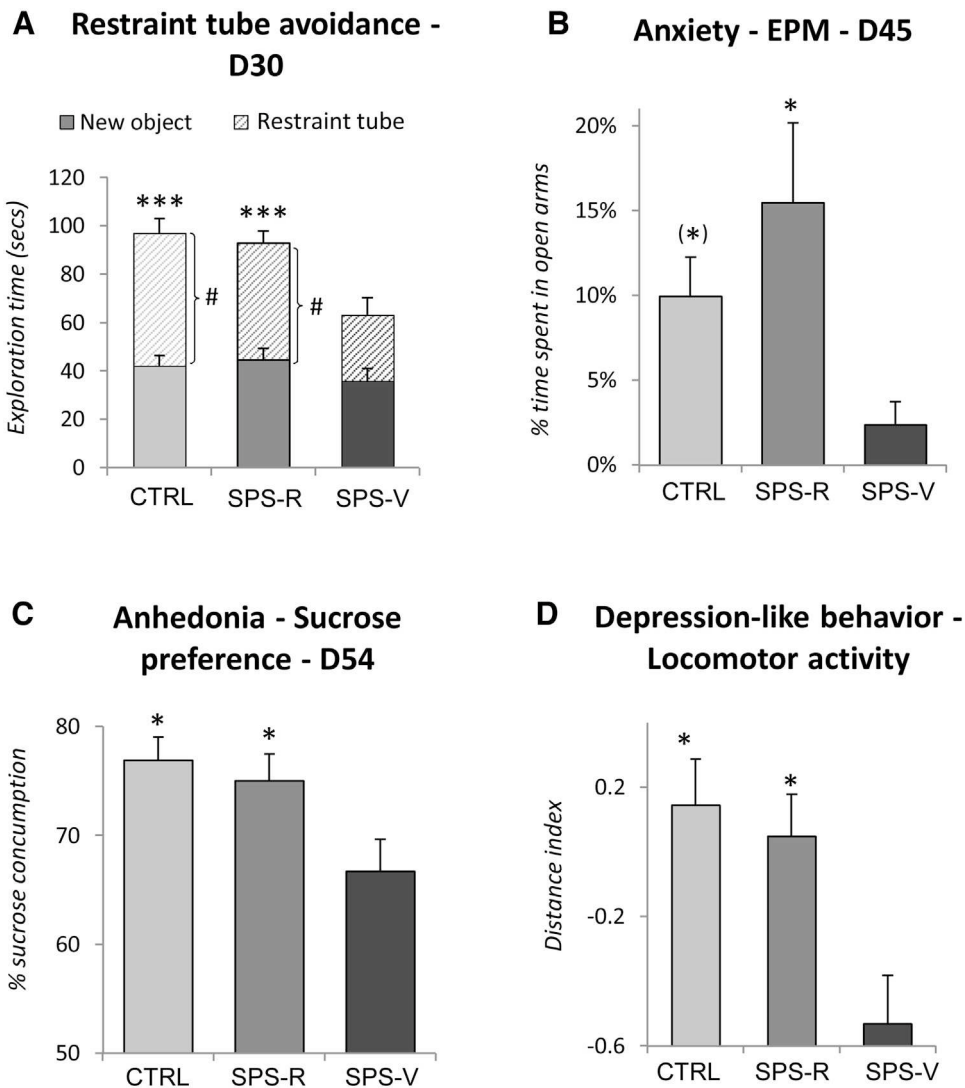
Statistical analyses were performed with standard ANOVAs, using VAR3 software [41], allowing subsequent planned comparisons. We generally used one-way ANOVAs to determine a Group effect among CTRL, SPS-R and SPS-V groups.

Two-way ANOVAs were also used when these three groups were tested in different conditions such as during the avoidance of the restraint tube (exploring the restrain-tube or the new object), the Yohimbine test (Saline vs Yohimbine), the trauma-associated tone and odor (without vs with the trauma-cue).

Some data have been transformed in order to be regrouped. We used z-score transformation ( $z = (\text{data of a rat} - \text{group mean}) / \text{group standard error}$ ) to obtain standardized data, allowing us to pool data obtained in different tests. This procedure was applied for locomotion scores obtained during three different tests: EPM, restraint tube exploration, and LD (Exp1) or OF (Exp2), in order to investigate the effects SPS may have on locomotor activity.

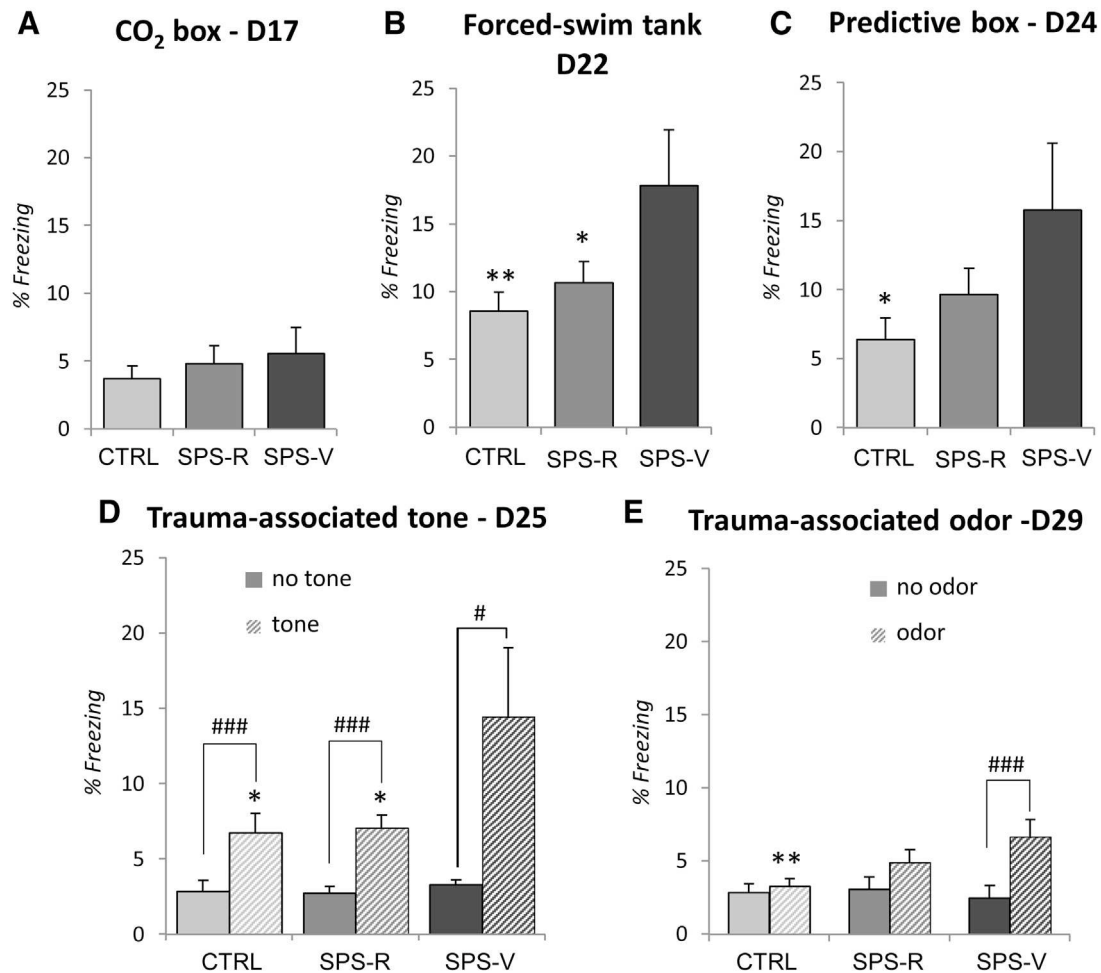


**Fig. 2.** Behavioral tests used to determine traumatized-Resilient (SPS-R) and Vulnerable (SPS-V) groups. A) Elevated plus maze (EPM) test delivered 15 days after SPS: percentage of time spent in the open arms over a 5 min period. B) Light-Dark (LD) test delivered 23 days after SPS: time spent in the light compartment (in seconds) during a 5 min period. C) Acoustic startle response (ASR) delivered 31 days after SPS: mean ASR obtained during the five blocks of six 115 dB tones, during a 16 min period. Data are expressed as mean ± standard error of the mean (SEM). \*0.05 > p > 0.01, \*\*0.01 > p > 0.001 = differences to SPS-V.



**Fig. 3.** Behavioral performance in SPS-R, SPS-V and CTRL groups during the remaining PTSD-like symptoms tests. A) Restraint tube avoidance performed 30 days after SPS: time spent to explore the restraint tube and a new object during a 5 min period. B) EPM test, 45 days after SPS: percentage of time spent in open arms, during a 5 min period. D) Anhedonia- Sucrose preference, 54 days after SPS: Percentage of sucrose (15%) consumption during a 30 min period. E) Locomotor activity determined during the EPM, avoidance and LD tests (each during a 5 min period). Data are expressed as mean ± standard error of the mean (SEM). (\*).0.1 > p > 0.05, \*0.05 > p > 0.01, \*\*0.01 > p > 0.001, \*\*\*0.001 > p = differences to SPS-V; #0.05 > p > 0.01 = differences to SPS-V for the restraint tube exploration.





**Fig. 4.** Percentage of freezing observed during exposure to trauma-associated cues in SPS-R, SPS-V and CTRL groups. A) Exposure to the CO<sub>2</sub> box, 17 days after SPS: mean amount of freezing during a 90 s period. B) Exposure to the forced-swim tank, 22 days after SPS: mean amount of freezing during a 3 min period. C) Exposure to the predictive box, 24 days after SPS: mean amount of freezing during a 60 s period. D) Reactivity to the trauma-associated tone, 25 days after SPS: mean amount of freezing obtained when rats were placed in a new box without tone (left column) and with the tone during two consecutive 90 s periods. E) Reactivity to the trauma-associated odor, 29 days after SPS: mean amount of freezing obtained in a new box with no odor and with the trauma-associated odor during 90 s periods. Data are expressed as mean ± standard error of the mean (SEM). \*0.05 > p > 0.01, \*\*0.01 > p > 0.001 = differences to SPS-V; #.05 > p > 0.01, ###0.001 > p = differences between the two groups.

To compare the proportion of rats among SPS-V or SPS-R groups, chi square tests were used. In all tests, significant differences were set at  $p < 0.05$ .

### 3. Results

#### 3.1. Experiment 1

In order to study the reactivity to a predictive cue, rats were placed for 90 s in a white box, just before the SPS. Control (CTRL,  $n = 24$ ) and Traumatized rats (SPS,  $n = 24$ ) were then subjected to a series of behavioral tests, starting 15 days after the trauma (See Fig. 1).

##### 3.1.1. Resilient vs vulnerable determination

Rats were classified as Resilient or Vulnerable based on their performance on the EPM, Light-Dark, and ASR tests: 8 out of the 24 SPS rats (33%) that exhibited 2 or 3 symptoms were considered as Vulnerable to the trauma (SPS-V), while the others (67%) were considered as Resilient (SPS-R). Three different groups were thus considered in all the behavioral tests: Controls (CTRL,  $n = 24$ ), SPS-Resilient (SPS-R,  $n = 16$ ) and SPS-Vulnerable groups (SPS-V,  $n = 8$ ).

##### 3.1.2. Main symptom tests: anxiety and arousal (Fig. 2)

Since traumatized rats were identified on the basis of these three tests, significant differences were expected between Vulnerable and CTRL rats.

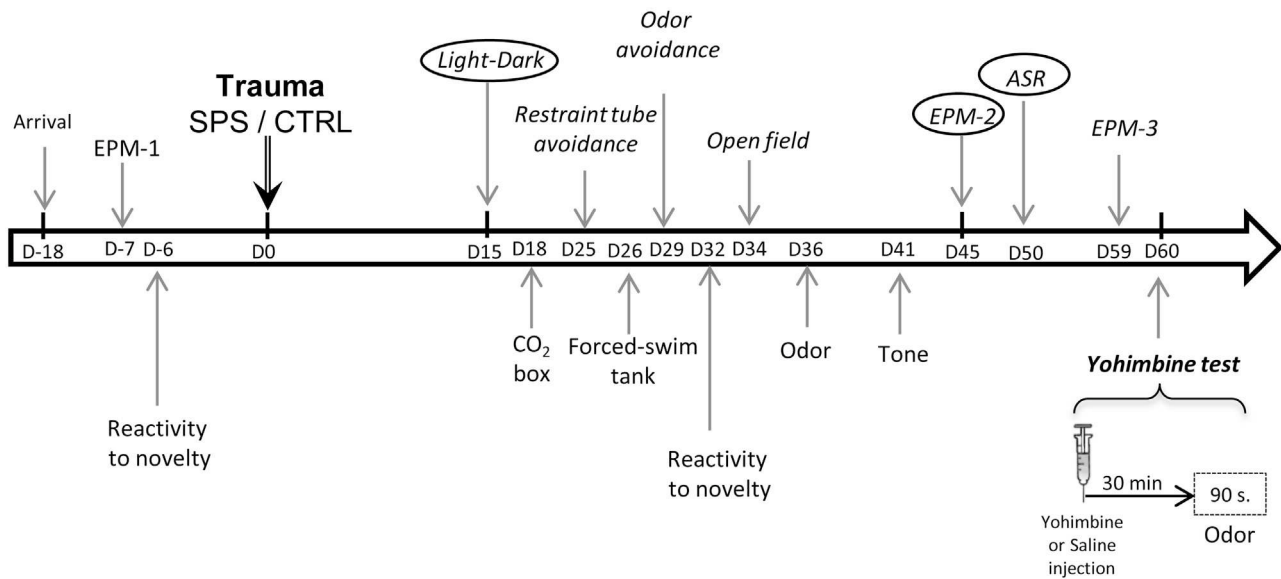
ANOVAs performed for the three different tests indicated:

- in the EPM test (D15): a significant Group effect ( $F(2,45) = 3.39$ ,  $p < 0.05$ ). SPS-V rats spent significantly less time in the open arms than SPS-R ( $F(1,22) = 7.09$ ,  $p < 0.05$ ) and CTRL rats ( $F(1,30) = 6.32$ ,  $p < 0.05$ ), with no differences between SPS-R and CTRL rats ( $F < 1$ ).

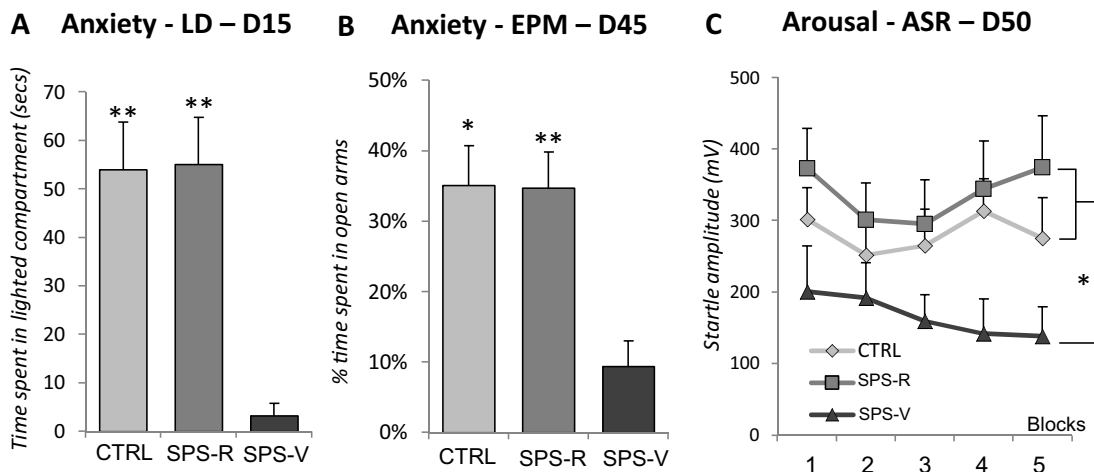
- during the LD test (D23): a significant Group effect ( $F(2,45) = 4.40$ ,  $p < 0.05$ ). SPS-V rats spent less time in the lighted compartment than CTRL and SPS-R rats ( $F(1,30) = 7.95$ ,  $p = 0.008$ ,  $F(1,22) = 8.11$ ,  $p < 0.01$ , respectively), with no difference between CTRL and SPS-R rats ( $F < 1$ ).

- during the ASR test (D31): a significant Group effect ( $F(2,45) = 3.6$ ,  $p < 0.05$ ). SPS-V rats exhibited lower startle responses than CTRL rats ( $F(1,30) = 4.48$ ,  $p < 0.05$ ) and the difference between SPS-V and SPS-R rats felt just short of significance ( $F(1,22) = 2.68$ ,  $p = 0.06$ ).

The present results indicated that, as expected, Vulnerable rats were more anxious and exhibited larger changes in arousal than Control rats, which behaved like Resilient rats.



**Fig. 5.** Timeline of general protocol used in experiment 2. Rats were first exposed to an Elevated plus maze EPM and reactivity to a novelty test before being exposed to single Prolonged Stress (SPS) or a control procedure (CTRL), at Day 0. Main PTSD-like symptoms tests (above the timeline): Light-Dark, trauma-cue avoidance tested with the restraint tube, odor avoidance, open field, elevated plus maze and acoustic startle response (ASR). Reactivity to trauma-associated cues (below the timeline): exposure to the CO<sub>2</sub> box, forced-swim tank, trauma-associated odor and tone were investigated from Day 15 to Day 59. The three main symptom tests, used to determine trauma vulnerability, are surrounded by a circle. The effect of yohimbine on cue reactivity was investigated at Day 60.



**Fig. 6.** Behavioral tests used to separate traumatized-Resilient (SPS-R) and Vulnerable (SPS-V) groups. A) Light-Dark (LD) test delivered 15 days after SPS: mean time spent in the light compartment (secs) during a 5 min period. B) Elevated plus maze (EPM) test delivered 45 days after SPS: percentage of time spent in the open arms during a 5 min period time. C) Acoustic startle response (ASR) delivered 50 days after SPS: mean ASR obtained the five blocks of six 115 dB tones, during a 16 min period. Data are expressed as mean  $\pm$  standard error of the mean (SEM). (\*)  $0.1 > p > 0.05$ , \* $0.05 > p > 0.01$ , \*\* $0.01 > p > 0.001$ , \*\*\* $0.001 > p > 0.0001$  = differences to SPS-V.

### 3.1.3. Other symptom tests (Fig. 3)

ANOVAs performed on the other symptom tests indicated:

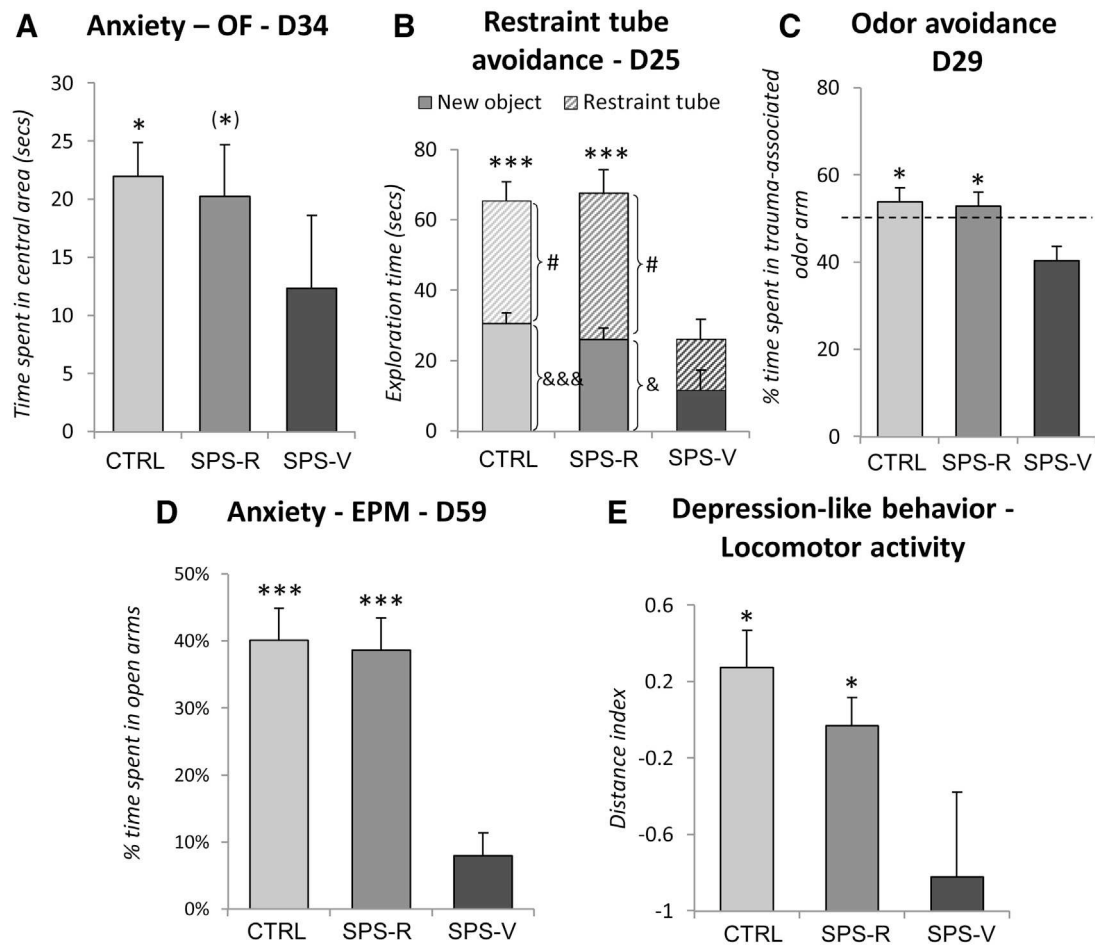
For the Restraint tube avoidance (D30; Fig. 3A): a significant Group effect ( $F(2,90)=4.79$ ,  $p < 0.01$ ), with SPS-V rats exploring significantly less than CTRL ( $F(1,60)=8.54$ ,  $p < 0.001$ ) and SPS-R rats ( $F(1,44)=8.69$ ,  $p < 0.001$ ), with no difference between these last two groups of rats ( $F < 1$ ). A more detailed analysis indicated that SPS-V group did not differ from the other two groups for the new object ( $F(2,45)=2.08$ , ns) while it significantly differed for the restraint tube from both the CTRL and SPS-R groups ( $F(1,30)=5.37$ ,  $p < 0.05$  and  $F(1,22)=4.43$ ,  $p < 0.05$ , respectively), demonstrating an avoidance of the trauma-associated cue.

During the other EPM (D45; Fig. 3B): a significant Group effect ( $F(2,45)=3.34$ ,  $p < 0.05$ ), with SPS-V rats exhibiting significantly more anxiety than SPS-R rats ( $F(1,22)=4.1$ ,  $p < 0.05$ ), while the difference with the CTRL rats felt just short of significance ( $F(1,$

$30)=3.56$ ,  $p = 0.06$ ) and no difference between CTRL and SPS-R group ( $F < 1$ ). These results indicate that Vulnerable rats are still more anxious than the other rats 45 days after the trauma.

During the sucrose preference test (D54; Fig. 3C): a significant Group effect ( $F(2,45)=3.69$ ,  $p < 0.05$ ), with SPS-V rats drinking significantly less sucrose solution than the CTRL, and SPS-R rats ( $F(1,31)=7.05$ ,  $p < 0.05$ , and  $F(1,22)=4.72$ ,  $p < 0.05$ , respectively), and no difference between these last two groups ( $F < 1$ ), indicating that SPS-V rats demonstrated anhedonia (see also [42]).

For locomotor activity (Fig. 3D): a significant Group effect ( $F(2,45)=3.83$ ,  $p < 0.05$ ), with SPS-V rats travelling significantly less than CTRL, and SPS-R rats ( $F(1,30)=6.64$ ,  $p < 0.05$ , and  $F(1,22)=7.29$ ,  $p < 0.05$ , respectively) during all the behavioral tests, indicating that trauma had a direct effect on the locomotor activity, at least during PTSD-like symptom tests.



**Fig. 7.** Behavioral performance in SPS-R, SPS-V and CTRL groups during other PTSD-like symptoms tests. A) Open-Field (OF) test, 34 days after SPS: time spent in the central area (in seconds) during a 5 min period time. B) Restraint tube avoidance, 25 days after SPS: time spent to explore the restraint tube and a new object during a 5 min period. C) Odor avoidance 29 days after SPS: percentage of time spent in the arm containing the trauma-associated odor during a 5 min period. D) EPM test, 59 days after SPS: percentage of time spent in open arms, during a 5 min period. E) Locomotor activity determined during the OF, EPM and avoidance tests (each during a 5 min period). Data are expressed as mean  $\pm$  standard error of the mean (SEM). (\* $0.1 > p > 0.05$ , \* $0.05 > p > 0.01$ , \*\* $0.01 > p > 0.001$ , \*\*\* $0.001 > p > 0.001$ , # $0.05 > p > 0.01$ , & $0.05 > p > 0.01$ , && $0.001 > p > 0.001$ ) = differences to SPS-V; # $0.05 > p > 0.01$  = differences to SPS-V for the restraint tube exploration; & $0.05 > p > 0.01$ , && $0.001 > p > 0.001$  = differences to SPS-V for the new object exploration.

Vulnerable rats were more anxious and exhibited changes in arousal, avoidance, anhedonia and reduced locomotor activity when compared to Control rats, which behaved similarly to Resilient rats.

#### 3.1.4. Reactivity to trauma-associated cues (Fig. 4)

Rats were also exposed to different trauma-associated cues and their reactivity to these cues was determined through the amount of freezing they displayed. Except for the CO<sub>2</sub> box (D17; Fig. 4A), ANOVAs performed on the amount of freezing indicated:

For the forced-swim tank (D22; Fig. 4B): a Group effect ( $F(2,45) = 4.51$ ,  $p < 0.05$ ), with SPS-V group exhibiting significantly more freezing than the CTRL and SPS-R groups ( $F(1,30) = 7.79$ ,  $p < 0.01$ , and  $F(1,22) = 3.95$ ,  $p < 0.05$ , respectively), and no difference between these latter two groups ( $F < 1$ ).

For the predictive box (D24; Fig. 4C): a Group effect ( $F(2,45) = 3.51$ ,  $p < 0.05$ ), with SPS-V rats freezing significantly more than CTRL rats ( $F(1,30) = 6.1$ ,  $p < 0.05$ ). However, the SPS-R rats did not statistically differ from the others two groups.

For the trauma-associated tone (D25; Fig. 4D): a Group effect ( $F(2,45) = 3.87$ ,  $p < 0.05$ ), Tone effect ( $F(1,45) = 26.28$ ,  $p < 0.001$ ) indicating more freezing when the tone was introduced, which was found for all groups ( $F(1,23) = 16.06$ ,  $p < 0.001$  for CTRL;  $F(1,15) = 17.65$ ,  $p < 0.001$  for SPS-R,  $F(1,7) = 4.67$ ,  $p = 0.05$  for SPS-V). A significant interaction between Group and Tone ( $F(2,45) = 3.32$ ,  $p < 0.05$ ) indicated that groups did not react similarly to the tone.

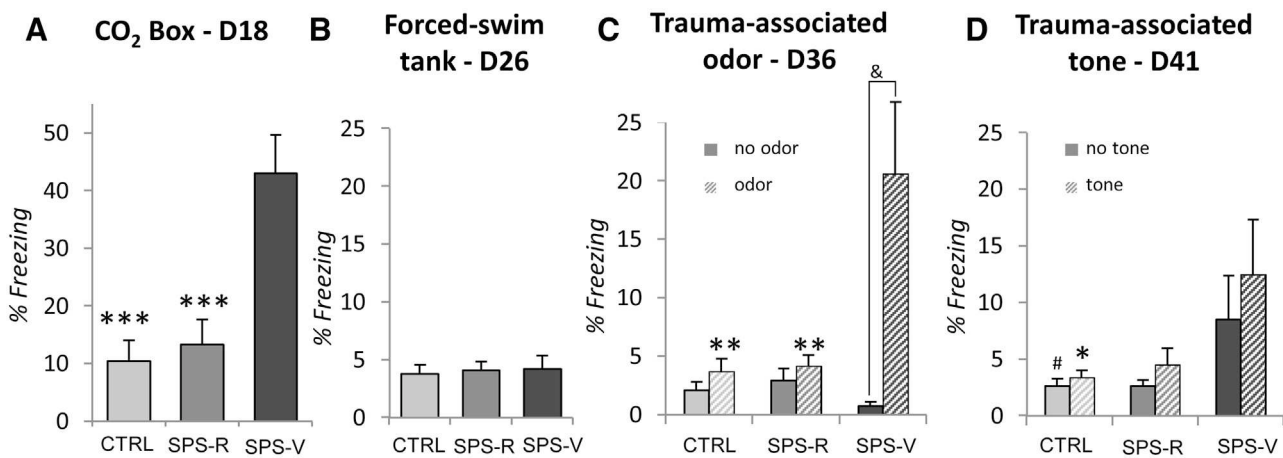
Planned comparisons indicated that the Group effect was significant only when the tone was presented, with Vulnerable rats exhibiting larger amount of freezing than the other two groups ( $F(1,30) = 5.2$ ,  $p < 0.05$  for CTRL and  $F(1,22) = 4.78$ ,  $p < 0.05$  for SPS-R).

For the trauma-associated odor (D29; Fig. 4E): no Group effect ( $F(2,45) = 1.53$ , ns), an Odor effect ( $F(1,45) = 8.87$ ,  $p < 0.01$ ), indicating more freezing when the odor was introduced, an effect that was significant only for the SPS-V group ( $F(1,7) = 32.20$ ,  $p < 0.001$ ), and a significant interaction between Group and Odor ( $F(2,45) = 3.35$ ,  $p < 0.05$ ). The Group effect was only obtained when the odor was presented ( $F(2,45) = 4.3$ ,  $p < 0.05$ ), with SPS-V rats exhibiting significantly larger amount of freezing than those of the CTRL group ( $F(1,30) = 9.79$ ,  $p < 0.01$ ). Resilient rats did not statistically differ from the other two groups.

Vulnerable rats demonstrated fear reaction to contextual (odor and tone), predictive, and specific cues (forced-swim tank).

#### 3.2. Experiment 2

Rats behaviorally characterized before the trauma were exposed either to the SPS or the control procedure (SPS,  $n = 16$  and CTRL,  $n = 16$ ) and were then subjected to a series of behavioral tests starting 2 weeks after the SPS (Fig. 5). On the basis of the main three symptoms tests, SPS rats were divided into Vulnerable and



**Fig. 8.** Percentage of freezing during exposure to trauma-associated cues in SPS-R, SPS-V and CTRL groups. A) Exposure to the CO<sub>2</sub> box, 18 days after SPS: mean amount of freezing during a 90 s period. B) Exposure to the forced-swim tank (without water), 26 days after SPS: mean amount of freezing during a 3 min period. C) Reactivity to the trauma-associated odor, 36 days after SPS: mean amount of freezing obtained in a new box with no odor and with the trauma-associated odor during 90 s periods. D) Reactivity to the trauma-associated tone, 41 days after SPS: amount of freezing obtained when rats were placed in a the same box as the one used for odor test without tone (left column) and with the trauma-associated tone during consecutive 90 s periods. Data are expressed as mean ± standard error of the mean (SEM). \*0.05 > p > 0.01, \*\*0.01 > p > 0.001, \*\*\*0.001 > p = differences to SPS-V; &0.5 > p > 0.01 = differences between the two groups.

Resilient. Here, 32% of SPS rats ( $n = 5$ ) were considered as Vulnerable, the remaining 68% ( $n = 11$ ), as Resilient.

### 3.2.1. Main symptom tests (Fig. 6)

Since traumatized rats were identified on the basis of these three tests, significant differences were expected between Vulnerable and CTRL rats.

For each test, ANOVAs indicated:

- in the LD test (D15; Fig. 6A): a Group effect ( $F(2,29) = 4.72$ ,  $p < 0.01$ ), with SPS-V rats spending significantly less time in the lighted part of the apparatus than CTRL and SPS-R rats ( $F(1,19) = 7.92$ ,  $p < 0.01$  and  $F(1,14) = 12.2$ ,  $p < 0.01$ , respectively), and no difference between CTRL and SPS-R rats.

- in the EPM test (D45): a Group effect ( $F(2,29) = 3.67$ ,  $p < 0.05$ ), with Vulnerable rats spending less time in the open arms than CTRL and SPS-R rats ( $F(1,19) = 5.93$ ,  $p < 0.05$  and  $F(1,14) = 9.96$ ,  $p < 0.01$ , respectively), and no difference between CTRL and SPS-R rats.

- in the ASR test (D50): a group effect ( $F(2,29) = 4.1$ ,  $p < 0.05$ ), with Vulnerable rats showing significantly lower ASR than the other two groups during the last two blocks ( $F(1,29) = 4.43$ ,  $p < 0.05$ ), and no difference between CTRL and SPS-R groups.

As expected, results obtained on the three main symptom tests confirmed that Vulnerable rats were more anxious and exhibited larger changes in arousal than Control rats, which behave similarly to Resilient rats.

### 3.2.2. Other symptom tests (Fig. 7)

ANOVAs performed on the other symptom tests indicated:

- during the open field test (D34; Fig. 7A): a significant Group effect ( $F(2,29) = 5.06$ ,  $p < 0.05$ ). Significant differences concerning the time exploring the central area were obtained between SPS-V rats and CTRL, but fell just short of significance between SPS-V and SPS-R rats ( $F(1,19) = 6.19$ ,  $p < 0.05$ , and  $F(1,14) = 3.54$ ,  $p = 0.07$  respectively), while these latter two groups did not differ ( $F < 1$ ), demonstrating increased anxiety for SPS-V.

- during the restraint tube avoidance (D25; Fig. 7B): a significant Group effect ( $F(2,58) = 6.36$ ,  $p < 0.001$ ) on the time spent exploring a new object and the restraint tube. SPS-V explored significantly less than CTRL and SPS-R rats ( $F(1,38) = 11.26$ ,  $p < 0.001$  and  $F(1,28) = 11.95$ ,  $p < 0.001$ , respectively). However, contrary to what was observed in Exp1, SPS-V rats avoided not only the restraint tube ( $F(2,29) = 3.2$ ,  $p = 0.05$ ; vs. CTRL:  $F(1,19) = 4.18$ ,  $p = 0.05$ ; vs. SPS-

R:  $F(1,14) = 6.76$ ,  $p < 0.05$ ) but also the novel object ( $F(2,29) = 5.13$ ,  $p < 0.05$ ; vs. CTRL:  $F(1,19) = 9.33$ ,  $p < 0.01$ ; vs. SPS-R  $F(1,14) = 5.8$ ,  $p < 0.05$ ).

- during the Odor avoidance (D29; Fig. 7C): a significant Group effect ( $F(2,29) = 3.9$ ,  $p < 0.05$ ) on the time spent in the arm filled with the odor. SPS-V rats spent significantly less time in the arm with filled with the trauma-odor than CTRL and SPS-R rats ( $F(1,19) = 5.01$ ,  $p < 0.05$  and  $F(1,14) = 5.72$ ,  $p < 0.05$ , respectively), indicating some avoidance of the trauma-associated odor for these rats.

- on the time spent in open arms of the EPM (D59 Fig. 7D): a significant Group effect was obtained ( $F(2,29) = 8.16$ ,  $p < 0.001$ ). SPS-V rats spent significantly less time in the open arms than SPS-R ( $F(1,14) = 18.62$ ,  $p < 0.001$ ) and CTRL rats ( $F(1,19) = 14.31$ ,  $p < 0.001$ ), with no difference between these two latter groups ( $F_s < 1$ ), indicating that anxiety was still present 59 days after the trauma.

- on the locomotor activity developed during all these behavioral tests (Fig. 7E): a significant Group effect ( $F(2,29) = 4.41$ ,  $p < 0.05$ ). SPS-V rats travelled significantly less than the CTRL, and SPS-R groups ( $F(1,19) = 6.81$ ,  $p < 0.05$ , and  $F(1,14) = 4.83$ ,  $p < 0.05$ , respectively), a result often interpreted as indicating depressive-like behavior.

The present results replicated those obtained in the previous experiment in showing that after a trauma, Vulnerable rats exhibit more anxiety, avoidance of trauma associated cues, alteration of arousal and less locomotor activity than control rats, which did not differ from Resilient rats.

### 3.2.3. Fear reactivity to trauma-associated cues (Fig. 8)

Except for the forced-swim tank test (D18; Fig. 8B), when the same rats were exposed to the different trauma-associated cues, ANOVAs performed on the percentage of freezing observed during the test indicated:

- on the CO<sub>2</sub> box (D18; Fig. 8A): a Group effect ( $F(2,29) = 8.24$ ,  $p < 0.001$ ), SPS-V rats exhibited significantly more freezing than CTRL and SPS-R rats ( $F(1,19) = 9.62$ ,  $p < 0.01$  and  $F(1,14) = 38.54$ ,  $p < 0.001$ , respectively), with no difference between CTRL and SPS-R rats ( $F < 1$ ).

- for the trauma-associated odor (D36; Fig. 8C): a Group effect ( $F(2,29) = 6.34$ ,  $p < 0.01$ ) and an Odor effect ( $F(1,29) = 9.64$ ,  $p < 0.01$ ), as well as a significant interaction between these two factors ( $F(2,29) = 9.79$ ,  $p < 0.001$ ). Complementary analyses revealed a significant Group effect was obtained during the odor expo-

sure ( $F(2,29)=9.74$ ,  $p<0.001$ ), indicating that only SPS-V rats, which increased their amount of freezing to the odor ( $F(1,4)=6.9$ ,  $p=0.05$ ), exhibited more freezing than both CTRL and SPS-R rats ( $F(1,19)=12.19$ ,  $p<0.01$  and  $F(1,14)=8.8$ ,  $p<0.01$ , respectively).

– for the trauma-associated tone (D41; Fig. 8D): a Group effect ( $F(2,29)=4.42$ ,  $p<0.05$ ) which was obtained whether or not the tone was delivered (without tone:  $F(2,29)=3.60$ ,  $p<0.05$ ); with tone:  $F(2,29)=3.38$ ,  $p<0.05$ ), a Tone effect:  $F(1,29)=4.11$ ,  $p<0.05$ , and no interaction between these factors ( $F<1$ ). When exposed to the box alone, SPS-V rats exhibited more freezing than CTRL rats ( $F(1,19)=4.77$ ,  $p<0.05$ ). During tone exposure, SPS-V rats displayed larger amount of freezing than the CTRL rats ( $F(1,19)=7.76$ ,  $p<0.05$ ) but the difference with SPS-R rats did not reach a significance level ( $F(1,14)=2.43$ ,  $p=0.13$ ).

The present results differed from those obtained in Exp1 in three different aspects. First, contrary to what observed in Exp1, rats did not react to the forced-swim tank. In the present experiment, rats were simply placed in the forced-swim tank, while in the previous experiment, there was some water in it, suggesting that this cue was a determinant in eliciting the fear reactions. Second, in the present experiment, Vulnerable rats demonstrated a significant increase in freezing when placed in the box in the absence of the tone-associated cue (Fig. 8D), a result which was not obtained in Exp1. In fact, this box was previously used for the odor presentation some few days before, suggesting that this increase in freezing resulted from fear generalization to that box. Third, in the present experiment, freezing in the CO<sub>2</sub> box was largely increased by the trauma in Vulnerable rats, while results obtained in Exp1 did not indicate any alteration. We did not find any rationale accounting for this difference.

*Vulnerable rats demonstrated strong fear reactions to contextual (odor and tone) and specific cues (CO<sub>2</sub> box), while Resilient rats did not differ from controls.*

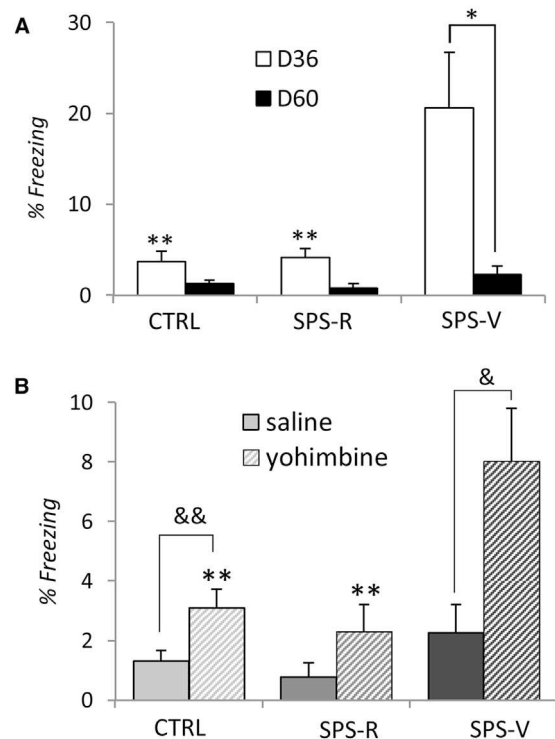
### 3.2.4. Effect of yohimbine on cue-exposure (Fig. 9)

At the end of the present experiment (Exp2, see Fig. 5), rats received either a yohimbine (i.p., 1.5 mg/kg) or a saline injection before being exposed to the trauma-associated odor.

**3.2.4.1. Time-course of fear responses to the trauma-odor.** In the present experiment, rats were exposed several times to the trauma-odor: first on D29 during the odor avoidance test, second on D36 to see fear reactivity to this cue and again during the yohimbine test on D60. Fear responses obtained during these last two exposures are illustrated on Fig. 9A. A two-way ANOVA performed on the percentage of freezing indicated a Group effect ( $F(2,29)=10.33$ ,  $p<0.001$ ), a Delay effect ( $F(1,29)=19.19$ ,  $p<0.001$ ) and a significant interaction between these two factors ( $F(2,29)=8.28$ ,  $p<0.01$ ). While SPS-V rats showed higher amounts of freezing than the two other groups on D36 ( $F(1,19)=12.19$ ,  $p<0.01$ , for CTRL and  $F(1,14)=8.8$ ,  $p<0.01$ , for SPS-R), they did not differ from them on D60 ( $F<1$ ), suggesting that fear responses to the trauma-odor were extinguished at 60 days.

**3.2.4.2. Effect of yohimbine.** A two-way ANOVA performed on the amount of freezing observed during the trauma-associated odor (Fig. 9B), indicated a significant Group effect ( $F(2,29)=6.41$ ,  $p<0.01$ ), a Treatment effect ( $F(1,29)=27.02$ ,  $p<0.001$ ) and a significant interaction between Group and Treatment ( $F(2,29)=5.47$ ,  $p<0.001$ ) with no repetition effect ( $F<1$ ). Yohimbine increased fear reactions in CTRL ( $F(1,15)=9.44$ ,  $p<0.01$ ) and SPS-V groups ( $F(1,4)=15.64$ ,  $p<0.05$ ), but this effect did not reach a significant level for the Resilient group (SPS-R:  $F(1,10)=4.22$ ,  $p=0.065$ ). Planned comparisons showed that there was no Group effect after a saline injection ( $F<1$ ) indicating that the different groups did not differ during the exposure to the odor-cue after 60 days. How-

## Yohimbine effect on cue reinstatement



**Fig. 9.** Yohimbine effect on cue-reinstatement: A) Mean amount of freezing obtained during the trauma-associated odor exposure delivered at D36 and D60 for SPS-R, SPS-V and CTRL groups. B) Percentage of time spent freezing during exposure to the trauma-associated odor for a 90-period time for SPS-R, SPS-V and CTRL groups, 60 days after SPS (D60), in rats receiving saline (Sal; 0.9%; 1 ml/kg; i.p.) or Yohimbine injections (Yoh; 1.5 mg/kg; 1 ml/kg; i.p.). Data are expressed as mean  $\pm$  standard error of the mean (SEM). \*,  $0.05 > p > 0.01$ , \*\*,  $0.01 > p > 0.001$ , \*\*\*,  $0.001 > p =$  differences to SPS-V; &  $0.05 > p > 0.01$ , &&  $0.01 < p < 0.001$  = differences between saline and Yohimbine groups.

ever, after the yohimbine injection, a Group effect was obtained ( $F(2,29)=7.04$ ,  $p<0.01$ ), with SPS-V rats exhibiting significantly more freezing than each of the other two groups ( $F(1,19)=11.53$ ,  $p<0.01$  for CTRL and  $F(1,14)=9.91$ ,  $p<0.01$  for SPS-R), with no difference between these two latter groups ( $F<1$ ), indicating that yohimbine reinstated the fear reaction to the trauma-associated odor.

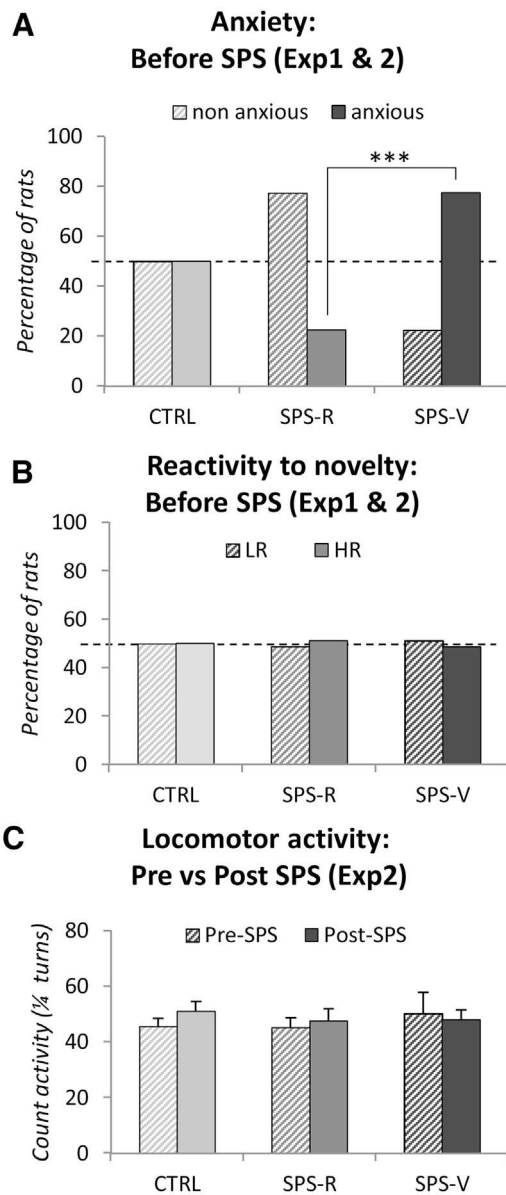
*Yohimbine increased anxiety in all rats and reinstated extinguished reactivity to the trauma-associated odor in Vulnerable rats only.*

### 3.3. Backward analyses: vulnerable/resilient rats profiles

Since rats were characterized before the trauma on two behavioral traits – the level of anxiety and their reactivity to novelty – we tried to determine whether the vulnerability of rats to the SPS could be predicted from these behavioral tests, using backward analyses. For that aim, the pre-trauma levels of anxiety and reactivity to novelty were analyzed in Resilient and Vulnerable rats.

#### 3.3.1. Trauma & anxiety (Fig. 10A)

As illustrated on Fig. 10A, around 77% of the SPS-V rats of Exp1 & 2 were qualified as anxious on the basis of the assignment performed on the pre-trauma EPM test, against 23% of the SPS-R rats. These percentages, determined during the pre-SPS EPM test, significantly differed in Resilient and Vulnerable rats ( $X^2=58.32$ ,  $p<0.001$ ).



**Fig. 10.** Rats profile: Backward analyses performed on CTRL, SPS-R and SPS-V groups on A) Anxiety before SPS (Exp1 & 2): percentage of rats classified as non anxious and anxious during the EPM test delivered 7 days before the SPS. B) Reactivity to novelty before SPS (Exp1 & 2): percentage of rats classified as high responder (HR) and low responder (LR) during the reactivity to novelty locomotion test delivered 6 days before the SPS. C) Pre and Post SPS Locomotor activity tests (Exp2): distance travelled during the corridor tests performed 6 days before the SPS (Pre-SPS) or 32 days after the SPS (Post-SPS).

### 3.3.2. Trauma & reactivity to novelty (Fig. 10B)

On the other hand, the reactivity to novelty did not appear to determine the vulnerability to trauma since 51% of HR rats were Vulnerable and 49% were Resilient ( $X^2 = 0.02$ , ns).

### 3.3.3. Trauma & locomotor activity (Fig. 10C)

A two-way ANOVA performed on the two different locomotor activity tests performed in the present experiment before and after the trauma (at D-6 and D32; Fig. 10C) showed no Group effect and no Repetition effect ( $F < 1$ ), indicating that locomotor activity did not differ during these two tests and was thus not altered by the SPS. The present results are in contrast with the reduced locomotor activity previously observed, suggesting that trauma only affects locomotor activity during the anxiety tests.

### 3.4. Summary of symptom and cue tests in Exp1 and Exp2 (Tables 1 and 2)

Tables 1 and 2 summarize the results obtained in the present study. As previously mentioned, Vulnerable rats were more anxious and exhibited changes in arousal, avoidance, anhedonia and reduced locomotor activity during anxiety tests, when compared to Resilient and Control rats, which behaved similarly to each other (Table 1). As indicated in Table 2, SPS-Vulnerable but not Resilient rats demonstrated fear responses when exposed to specific and contextual trauma-associated cues.

## 4. Discussion

The aim of the present paper was to determine the vulnerability of rats when exposed to a trauma, their sensitivity to trauma-associated cues, and the implication of the noradrenergic system in re-experiencing. Here we showed that only some of the rats exposed to a single prolonged stress procedure demonstrated PTSD-like symptoms. These

Vulnerable rats were also those exhibiting fear reactions when exposed to trauma-associated cues, indicating that for these rats, trauma-associated cues act as trauma reminders promoting re-experiencing. Our results further indicate that increasing noradrenaline release by a yohimbine injection is able to reinstate extinguished fear reactions to a trauma-associated cue.

### 4.1. SPS and PTSD-like symptoms

In the present experiments, SPS-exposed Vulnerable rats exhibited severe behavioral changes, reproducing the main symptoms listed in the DSM-5 to define PTSD, including anxiety, alteration of arousal, avoidance, and anhedonia (Table 1). We showed also that decreases of locomotor activity, generally considered as a sign of depressive-like behavior, was only observed during anxiety tests [37–39]. However, these decreases were not expressed during the locomotor activity test, reproducing previous results obtained after SPS [43,44], questioning the validity of the depressive symptom and suggesting that decreases in locomotor activity during the behavioral test more likely result from anxiety or anhedonic state [42]. The present results also show symptoms persisting over a two-month period, while previous studies with SPS never exceeded two weeks [45–48]. Interestingly, these symptoms did not diminish over time as assessed by the repeated EPM tests which consistently indicated higher level of anxiety in Vulnerable rats than in the other groups of rats, indicating that SPS induced enduring behavioral alterations, detectable only in a part of the exposed population, reproducing PTSD characteristics.

### 4.2. Trauma vulnerability

According to our method, based on three different behavioral tests, around 30% of the SPS rats can be considered as Vulnerable. This percentage seems relatively stable over our two experiments, while rats originated from different suppliers. The present results assess the reliability and the validity of our method by showing that Vulnerable rats determined in this way, were significantly different from Resilient and Control rats for the remaining symptom tests and for their reactivity to the different trauma associated cues (see Tables 1 and 2). The present results strengthen the validity of the SPS as a PTSD animal model since its effects were restricted to a part of the traumatized rat population, mimicking what is observed in PTSD patients [49].

**Table 1**

Symptoms studied in Experiment 1 and Experiment 2: (\*) 0.1 &gt; p &gt; 0.05, \*.05 &gt; p &gt; 0.01, \*\*.01 &gt; p &gt; 0.001.

Symptoms	tests	Exp 1			Exp 2		
		SPS-R vs CTRL	SPS-V vs SPS-R	SPS-V vs CTRL	SPS-R vs CTRL	SPS-V vs SPS-R	SPS-V vs CTRL
Anxiety	EPM	n.s.	*	*	n.s.	**	*
	LD	n.s.	**	**	n.s.	**	**
	OF				n.s.	(*)	*
Alteration of arousal	ASR	n.s.	(*)	*	n.s.	(*)	*
Avoidance	Restraint tube	n.s.	*	*	n.s.	*	*
	Odor				n.s.	*	*
Anhedonia	Sucrose pref.	n.s.	*	*			
Depression-like behavior	Locomotor activity	n.s.	*	*	n.s.	*	*

**Table 2**

Reactivity to trauma-associated cues studied in Experiment 1 and Experiment 2: (\*) 0.1 &gt; p &gt; 0.05, \*.05 &gt; p &gt; 0.01, \*\*.01 &gt; p &gt; 0.001, \*\*\*.01 &gt; p.

Cue react. (freezing)	Exp 1			Exp 2		
	SPS-R vs CTRL	SPS-V vs SPS-R	SPS-V vs CTRL	SPS-R vs CTRL	SPS-V vs SPS-R	SPS-V vs CTRL
Predict. Cue	n.s.	n.s.	*			
Forced-swim tank	n.s.	*	**	n.s.	n.s.	n.s.
CO <sub>2</sub> box	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	***	***
Odor	n.s.	n.s.	**	n.s.	**	**
Tone	n.s.	*	*	n.s.	*	*

#### 4.3. Factors determining trauma vulnerability

Despite the fact that our principal aim was not to detect factors determining trauma vulnerability, this study indicates that anxiety is a main factor since 77% of the Vulnerable rats were already considered as anxious before the trauma (Fig. 10). While the level of anxiety is generally not assessed before the trauma in PTSD

patients, anxiety is commonly considered as one of the best predictor of the trauma vulnerability in human [50,51]. However, anxiety cannot be considered as the only factor involved in trauma vulnerability since 23% of Vulnerable rats were classified as “non-anxious” before the trauma. Our results further indicate that the reactivity to novelty is not a predictor of the trauma vulnerability. At first sight, this result might appear contradictory with our hypothesis of

a common basis between PTSD and drug addiction, since this factor has been initially proposed to determine the vulnerability to drug addiction [32]. However, more recent studies suggest that HR/LR trait is more involved in the sensitivity than in the vulnerability to drug of abuse [52].

#### 4.4. Reactivity to trauma-associated cues

One of the principal aims of the present paper was to investigate the ability of trauma-associated cues to trigger fear. As previously noted, reactivity to trauma related cues was poorly addressed in the literature until recently. It has been shown that traumatized animals react to the source of the trauma: a tone when the trauma is induced by a tone fear conditioning [48,53,54], a predator odor when used to induce the trauma [55], or a water immersion, after an underwater trauma [23]. Some recent experiments used reactions to a trauma reminder as well as anxiety level to classify traumatized rats [25]. However, no study investigated and compared the reactivity to different cues present during the trauma. Since our hypothesis was that the trauma enhanced the reactivity to significant cues through increases of NA release, hyper reactivity to trauma-associated cues was expected only in Vulnerable rats. In the present experiments, different types of cues were tested: *specific cues* which directly participated in the trauma such as the experimental devices in which rats were placed during trauma (restraint tube, forced-swim tank, CO<sub>2</sub> box); *contextual cues*, i.e. neutral cues, present during the SPS but not directly involved in the trauma, such as odor and tone cues; and a *predictive cue*, here a white box in which rats were placed just before being exposed to the SPS, in order to induce a temporal contiguity between this box and the SPS. Concerning the trauma-associated cues, two different aspects have been studied: the fear elicited by these cues, quantified by the amount of freezing observed during the cue exposure (Table 2), and the avoidance of these cues (Table 1). Our results clearly show that Vulnerable rats that demonstrated PTSD symptoms were also those reacting to the different trauma-associated cues. This result shows that every component of the SPS situation has been encoded and associated with the trauma, suggesting that these component cues may potentially be used as a trauma reminder. It is, however, very difficult to determine the relative salience of these different cues. Another point to be mentioned is that, although exposed to the trauma, Resilient rats did not react to trauma-associated cues. This must be considered in relation with similar results observed in humans, showing that trauma exposed subjects failed to react to trauma associated cues, particularly when their reactivity to these cues were tested long after the trauma [2,56,57].

#### 4.5. Amnesia versus hypermnesia

Traumatic memories of PTSD patients have been noted as disorganized and fragmented due to the failure to integrate memories into the autobiographical context [58]. According to some authors, this would lead to hypermnesia for specific trauma-related stimuli and amnesia for the traumatic surrounding context [59,60]. As previously noted, in our conditions, Vulnerable rats reacted to all the cues presented. Our results clearly indicated contextual cues, such as the tone and the odor associated with every step of the SPS, were perceived and analyzed as fear cues, and were not affected by amnesia. However, amnesia may be responsible for some of our results. For instance, exposure to the forced-swim tank induced a substantial amount of freezing in Vulnerable rats when associated with water (Exp1) but not in its absence (Exp2), suggesting either forgetting of the general context of the forced-swim test or that this cue had not been encoded. In contrast, there was a good memory for the water serving as the specific cue for this test.

#### 4.6. Effects of yohimbine

In the present study we explored various possibilities to trigger re-experiences. Yohimbine, an  $\alpha_2$  noradrenergic receptor antagonist that increases peripheral and central noradrenergic transmission, has been shown to induce flashbacks, accompanied by anxiety, and sometimes long lasting panic-attacks in PTSD patients [21,22]. In the case of addiction, yohimbine has been reported to produce a cue-induced reinstatement of drug-seeking, after the extinction of the drug-related cues [19,61]. Our data indicate a significant decrease of fear responses to the odor cue between 36 and 60 days (Exp2), indicating an extinction of the trauma-associated odor as an effective trauma-reminder after three repeated exposures, a result in agreement with the exposure therapy principle [62]. Yohimbine increased anxiety in all groups of rats, confirming its anxiogenic properties [63,64]. However, after a yohimbine injection, Vulnerable rats showed significantly more freezing than the other two groups suggesting that yohimbine reinstated fear responses to the odor. In a previous study we showed that blocking the NA release, by inhibiting the  $\alpha_2$  noradrenergic receptor with clonidine during the SPS, prevented trauma-associated symptoms [6]. In the present experiment, we showed that delivering Yohimbine restores the sensitivity of Vulnerable rats to an extinguished reminder cue, suggesting that re-experiencing is related to NA release.

As previously mentioned, Yohimbine has been reported to produce a cue-induced reinstatement of drug-seeking after the extinction of drug-related cues [19,61], the present results suggest that yohimbine also produces a cue-induced reinstatement of fear responses after the extinction of a trauma-associated cue. This result further supports the close relationship between the physiological processes underlying PTSD and dependence on drugs of abuse [6].

### 5. Conclusion

Here we show that after a trauma only a part of the exposed rats develop PTSD-like symptoms. These Vulnerable rats were also those exhibiting fear response and avoidance, associated with anxiety, when exposed to trauma-associated cues, suggesting that these cues induce something similar to re-experiencing in PTSD patients. We also showed that, as in humans, increasing noradrenergic release increased fear and anxiety and thus led to re-experiencing in Vulnerable rats. All these results strengthen the similarities between PTSD and drug dependence [6]. They also provide useful information on how to reactivate trauma memories which can be used for therapeutic purposes to reduce PTSD. Our recent findings demonstrate that reactivated memories are malleable and susceptible to integrate new information [65]. We have recently demonstrated [14] that malleability can be used to reduce the emotional valence of the trauma memory by inducing memory reactivation, while the subject is placed in a positive mood by a pharmacological agent. The present results allow us to explore further this new therapeutic approach, which opens interesting and innovative perspectives in the field of neuropsychiatric pathologies and drug addiction [66].

#### Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

#### Acknowledgements

The research was supported by a DGA-MRIS (Direction Générale de l'Armement) scholarship. We are very grateful to Prof. DC. Riccio



for the correction of the English text. We thank Aurélie Bonnilla, Céline Dubois and Fabien Lhéricel for the animal care.

## References

- [1] D.E. Hinton, V. Pich, D. Chhean, M.H. Pollack, D.H. Barlow, Olfactory-triggered panic attacks among Cambodian refugees attending a psychiatric clinic, *Gen. Hosp. Psychiatry* 26 (2004) 390–397, <http://dx.doi.org/10.1016/j.genhosppsych.2004.04.007>.
- [2] E. Vermetten, C. Schmahl, S.M. Southwick, J.D. Bremner, Positron tomographic emission study of olfactory induced emotional recall in veterans with and without combat-related posttraumatic stress disorder, *Psychopharmacol. Bull.* 40 (2007) 8–30.
- [3] I. Liberzon, S.F. Taylor, R. Amdur, T.D. Jung, K.R. Chamberlain, S. Minoshima, et al., Brain activation in PTSD in response to trauma-related stimuli, *Biol. Psychiatry* 45 (1999) 817–826.
- [4] A.L. Dougall, K.J. Craig, A. Baum, Assessment of characteristics of intrusive thoughts and their impact on distress among victims of traumatic events, *Psychosom. Med.* 61 (1999) 38–48.
- [5] T.Y. Schooler, A.L. Dougall, A. Baum, Cues, frequency, and the disturbing nature of intrusive thoughts: patterns seen in rescue workers after the crash of Flight 427, *J. Trauma Stress* 12 (1999) 571–585, <http://dx.doi.org/10.1023/A:1024756832073>.
- [6] D. Toledano, J.-P. Tassin, P. Gisquet-Verrier, Traumatic stress in rats induces noradrenergic-dependent long-term behavioral sensitization: role of individual differences and similarities with dependence on drugs of abuse, *Psychopharmacology (Berl.)* 230 (2013) 465–476, <http://dx.doi.org/10.1007/s00213-013-3179-5>.
- [7] H. de Wit, J. Stewart, Reinstatement of cocaine-reinforced responding in the rat, *Psychopharmacology (Berl.)* 75 (1981) 134–143.
- [8] H. de Wit, J. Stewart, Drug reinstatement of heroin-reinforced responding in the rat, *Psychopharmacology (Berl.)* 79 (1983) 29–31.
- [9] W.M. Davis, S.G. Smith, Role of conditioned reinforcers in the initiation, maintenance and extinction of drug-seeking behavior, *Pavlov. J. Biol. Sci.* 11 (1976) 222–236.
- [10] J.W. Grimm, R.E. See, Dissociation of primary and secondary reward-relevant limbic nuclei in an animal model of relapse, *Neuropsychopharmacology* 22 (2000) 473–479, [http://dx.doi.org/10.1016/S0893-133X\(99\)00157-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0893-133X(99)00157-8).
- [11] F. Weiss, R. Martin-Fardon, R. Ciccocioppo, T.M. Kerr, D.L. Smith, O. Ben-Shahar, Enduring resistance to extinction of cocaine-seeking behavior induced by drug-related cues, *Neuropsychopharmacology* 25 (2001) 361–372, [http://dx.doi.org/10.1016/S0893-133X\(01\)00238-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0893-133X(01)00238-X).
- [12] A.J. Jasinska, E.A. Stein, J. Kaiser, M.J. Naumer, Y. Yalachkov, Factors modulating neural reactivity to drug cues in addiction: a survey of human neuroimaging studies, *Neurosci. Biobehav. Rev.* 38 (2014) 1–16, <http://dx.doi.org/10.1016/j.neubiorev.2013.10.013>.
- [13] J. Goodman, K.-C. Leong, M.G. Packard, Emotional modulation of multiple memory systems: implications for the neurobiology of post-traumatic stress disorder, *Rev. Neurosci.* 23 (2012) 627–643, <http://dx.doi.org/10.1515/revneuro-2012-0049>.
- [14] D. Toledano, P. Gisquet-Verrier, Only susceptible rats exposed to a model of PTSD exhibit reactivity to trauma-related cues and other symptoms: an effect abolished by a single amphetamine injection, *Behav. Brain Res.* 272 (2014) 165–174, <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2014.06.039>.
- [15] J.-P. Tassin, Uncoupling between noradrenergic and serotonergic neurons as a molecular basis of stable changes in behavior induced by repeated drugs of abuse, *Biochem. Pharmacol.* 75 (2008) 85–97, <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcp.2007.06.038>.
- [16] M.G. Feenstra, Dopamine and noradrenaline release in the prefrontal cortex in relation to unconditioned and conditioned stress and reward, *Prog. Brain Res.* 126 (2000) 133–163, [http://dx.doi.org/10.1016/S0079-6123\(00\)26012-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0079-6123(00)26012-3).
- [17] D. Toledano, P. Gisquet-Verrier, Repeated amphetamine injections alter behavior and induce a delayed behavioral sensitization modulated by reactivity to novelty: similarities and differences with trauma consequences, *Eur. Neuropsychopharmacol.* (2016), <http://dx.doi.org/10.1016/j.euroneuro.2015.12.042>.
- [18] K.M. Banna, S.E. Back, P. Do, R.E. See, Yohimbine stress potentiates conditioned cue-induced reinstatement of heroin-seeking in rats, *Behav. Brain Res.* 208 (2010) 1–10, <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2009.11.030>.
- [19] M.W. Feltenstein, R.E. See, Potentiation of cue-induced reinstatement of cocaine-seeking in rats by the anxiogenic drug yohimbine, *Behav. Brain Res.* 174 (2006) 1–8, <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2006.06.039>.
- [20] T. O'Donnell, K.M. Hegadoren, N.C. Coupland, Noradrenergic mechanisms in the pathophysiology of post-traumatic stress disorder, *Neuropsychobiology* 50 (2004) 273–283, <http://dx.doi.org/10.1159/000080952>.
- [21] S.M. Southwick, J.H. Krystal, J.D. Bremner, C.A. Morgan, A.L. Nicolau, L.M. Nagy, et al., Noradrenergic and serotonergic function in posttraumatic stress disorder, *Arch. Gen. Psychiatry* 54 (1997) 749–758.
- [22] J.D. Bremner, R.B. Innis, C.K. Ng, L.H. Staib, R.M. Salomon, R.A. Bronen, et al., Positron emission tomography measurement of cerebral metabolic correlates of yohimbine administration in combat-related posttraumatic stress disorder, *Arch. Gen. Psychiatry* 54 (1997) 246–254.
- [23] Z. Ardi, G. Ritov, M. Lucas, G. Richter-Levin, The effects of a reminder of underwater trauma on behaviour and memory-related mechanisms in the rat dentate gyrus, *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 17 (2014) 571–580, <http://dx.doi.org/10.1017/S1461145713001272>.
- [24] Z. Ardi, A. Albrecht, A. Richter-Levin, R. Saha, G. Richter-Levin, Behavioral profiling as a translational approach in an animal model of posttraumatic stress disorder, *Neurobiol. Dis.* 88 (2016) 139–147, <http://dx.doi.org/10.1016/j.nbd.2016.01.012>.
- [25] G. Ritov, B. Boltyansky, G. Richter-Levin, A novel approach to PTSD modeling in rats reveals alternating patterns of limbic activity in different types of stress reaction, *Mol. Psychiatry* (2015), <http://dx.doi.org/10.1038/mp.2015.169>.
- [26] A. Siegmund, C.T. Wotjak, A mouse model of posttraumatic stress disorder that distinguishes between conditioned and sensitised fear, *J. Psychiatr. Res.* 41 (2007) 848–860, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpsychires.2006.07.017>.
- [27] Y. Golub, C.P. Mauch, M. Dahlhoff, C.T. Wotjak, Consequences of extinction training on associative and non-associative fear in a mouse model of Posttraumatic Stress Disorder (PTSD), *Behav. Brain Res.* 205 (2009) 544–549, <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2009.08.019>.
- [28] S.A. Perrine, A.L. Eagle, S.A. George, K. Mulo, R.J. Kohler, J. Gerard, et al., Severe, multimodal stress exposure induces PTSD-like characteristics in a mouse model of single prolonged stress, *Behav. Brain Res.* 303 (2016) 228–237, <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2016.01.056>.
- [29] I. Liberzon, M. Krstov, E. A. Young, Stress-restress: effects on ACTH and fast feedback, *Psychoneuroendocrinology* 22 (1997) 443–453.
- [30] Z.-M. Wu, C.-H. Zheng, Z.-H. Zhu, F.-T. Wu, G.-L. Ni, Y. Liang, SiRNA-mediated serotonin transporter knockdown in the dorsal raphe nucleus rescues single prolonged stress-induced hippocampal autophagy in rats, *J. Neurol. Sci.* 360 (2016) 133–140, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jns.2015.11.056>.
- [31] Z.-K. Qiu, G.-H. Zhang, J.-L. He, J.-C. Ma, J. Zeng, D. Shen, et al., Free and Easy Wanderer Plus (FEWP) improves behavioral deficits in an animal model of post-traumatic stress disorder by stimulating allopregnanolone biosynthesis, *Neurosci. Lett.* 602 (2015) 162–166, <http://dx.doi.org/10.1016/j.neulet.2015.06.055>.
- [32] P.V. Piazza, J.M. Deminière, M. Le Moal, H. Simon, Factors that predict individual vulnerability to amphetamine self-administration, *Science* 245 (1989) 1511–1513.
- [33] J.W. Błazarczyk, K. Tajchert, T. Werka, Effect of nonaversive and aversive stimulations in infancy on the acoustic startle response in adult rats, *Acta Neurobiol. Exp. (Wars)* 59 (1999) 9–14.
- [34] B.L. Warren, V.F. Vialou, S.D. Iñiguez, L.F. Alcantara, K.N. Wright, J. Feng, et al., Neurobiological sequelae of witnessing stressful events in adult mice, *Biol. Psychiatry* 73 (2013) 7–14, <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopsych.2012.06.006>.
- [35] M. Papp, P. Willner, R. Muscat, An animal model of anhedonia: attenuation of sucrose consumption and place preference conditioning by chronic unpredictable mild stress, *Psychopharmacology (Berl.)* 104 (1991) 255–259.
- [36] P. Willner, R. Muscat, M. Papp, Chronic mild stress-induced anhedonia: a realistic animal model of depression, *Neurosci. Biobehav. Rev.* 16 (1992) 525–534, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1480349>.
- [37] T.-H. Lee, K. Kim, M.-S. Shin, C.-J. Kim, B.-V. Lim, Treadmill exercise alleviates chronic mild stress-induced depression in rats, *J. Exerc. Rehabil.* 11 (2015) 303–310, <http://dx.doi.org/10.12965/jer.150265>.
- [38] M. Lin, S.G. Hofmann, M. Qian, S. Li, Enhanced association between perceptual stimuli and trauma-related information in individuals with posttraumatic stress disorder symptoms, *J. Behav. Ther. Exp. Psychiatry* 46 (2015) 202–207, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbtep.2014.10.008>.
- [39] G. Patki, L. Li, F. Allam, N. Solanki, A.T. Dao, K. Alkadhi, et al., Moderate treadmill exercise rescues anxiety and depression-like behavior as well as memory impairment in a rat model of posttraumatic stress disorder, *Physiol. Behav.* 130 (2014) 47–53, <http://dx.doi.org/10.1016/j.physbeh.2014.03.016>.
- [40] R.S. Pynoos, R.F. Ritzmann, A. M. Steinberg, A. Goenjian, I. Prisecaru, A behavioral animal model of posttraumatic stress disorder featuring repeated exposure to situational reminders, *Biol. Psychiatry* 39 (1996) 129–134, [http://dx.doi.org/10.1016/0006-3223\(95\)00088-7](http://dx.doi.org/10.1016/0006-3223(95)00088-7).
- [41] H. Rouanet, J.M. Bernard, B. Leroux, *Statistiques en sciences humaines: analyse inductive des données*, Dunod, Paris, 1990.
- [42] N.M. Enman, K. Arthur, S.J. Ward, S.A. Perrine, E.M. Unterwald, Anhedonia, reduced cocaine reward, and dopamine dysfunction in a rat model of posttraumatic stress disorder, *Biol. Psychiatry* (2015), <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopsych.2015.04.024>.
- [43] A.L. Eagle, C.J. Fitzpatrick, S.A. Perrine, Single prolonged stress impairs social and object novelty recognition in rats, *Behav. Brain Res.* 256 (2013) 591–597, <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2013.09.014>.
- [44] A.L. Eagle, D. Knox, M.M. Roberts, K. Mulo, I. Liberzon, M.P. Galloway, et al., Single prolonged stress enhances hippocampal glucocorticoid receptor and phosphorylated protein kinase B levels, *Neurosci. Res.* 75 (2013) 130–137, <http://dx.doi.org/10.1016/j.neures.2012.11.001>.
- [45] A. Imanaka, S. Morinobu, S. Toki, S. Yamawaki, Importance of early environment in the development of post-traumatic stress disorder-like behaviors, *Behav. Brain Res.* 173 (2006) 129–137, <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2006.06.012>.
- [46] L.I. Serova, a. Tillinger, L.G. Alaluf, M. Laukova, K. Keegan, E.L. Sabban, Single intranasal neuropeptide Y infusion attenuates development of PTSD-like symptoms to traumatic stress in rats, *Neuroscience* 236 (2013) 298–312, <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2013.01.040>.
- [47] E. Ganon-Elazar, I. Akirav, Cannabinoids prevent the development of behavioral and endocrine alterations in a rat model of intense stress, *Neuropsychopharmacology* 37 (2012) 456–466, <http://dx.doi.org/10.1038/npp.2011.204>.

- [48] W. Wang, Y. Liu, H. Zheng, H.N. Wang, X. Jin, Y.C. Chen, et al., A modified single-prolonged stress model for post-traumatic stress disorder, *Neurosci. Lett.* 441 (2008) 237–241, <http://dx.doi.org/10.1016/j.neulet.2008.06.031>.
- [49] R.C. Kessler, A. Sonnega, E. Bromet, M. Hughes, C.B. Nelson, Posttraumatic stress disorder in the national comorbidity survey, *Arch. Gen. Psychiatry* 52 (1995) 1048–1060.
- [50] R.J. McNally, J.P. Hatch, E.M. Cedillos, C.A. Luethcke, M.T. Baker, A.L. Peterson, et al., Does the repressor coping style predict lower posttraumatic stress symptoms? *Mil. Med.* 176 (2011) 752–756.
- [51] C.F. Weems, A.A. Pina, N.M. Costa, S.E. Watts, L.K. Taylor, M.F. Cannon, Predisaster trait anxiety and negative affect predict posttraumatic stress in youths after hurricane Katrina, *J. Consult. Clin. Psychol.* 75 (2007) 154–159, <http://dx.doi.org/10.1037/0022-006X.75.1.154>.
- [52] D. Belin, N. Berson, E. Balado, P.V. Piazza, V. Deroche-Gamont, High-novelty-preference rats are predisposed to compulsive cocaine self-administration, *Neuropsychopharmacology* 36 (2011) 569–579, <http://dx.doi.org/10.1038/npp.2010.188>.
- [53] O. Deschaux, G. Spennato, J.-L. Moreau, R. Garcia, Chronic treatment with fluoxetine prevents the return of extinguished auditory-cued conditioned fear, *Psychopharmacology (Berl.)* 215 (2011) 231–237, <http://dx.doi.org/10.1007/s00213-010-2134-y>.
- [54] X. Zheng, O. Deschaux, J. Lavigne, O. Nachon, C. Cleren, J.-L. Moreau, et al., Prefrontal high-frequency stimulation prevents sub-conditioning procedure-provoked, but not acute stress-provoked, reemergence of extinguished fear, *Neurobiol. Learn. Mem.* 101 (2013) 33–38, <http://dx.doi.org/10.1016/j.nlm.2013.01.003>.
- [55] P.R. Zoladz, M. Fleshner, D.M. Diamond, Differential effectiveness of tianeptine, clonidine and amitriptyline in blocking traumatic memory expression, anxiety and hypertension in an animal model of PTSD., *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 44 (2013) 1–16, <http://dx.doi.org/10.1016/j.pnpbp.2013.01.001>.
- [56] S. Rabe, D. Dörfel, T. Zöllner, A. Maercker, A. Karl, Cardiovascular correlates of motor vehicle accident related posttraumatic stress disorder and its successful treatment, *Appl. Psychophysiol. Biofeedback* 31 (2006) 315–330, <http://dx.doi.org/10.1007/s10484-006-9027-1>.
- [57] R.G. Parsons, K.J. Ressler, Implications of memory modulation for post-traumatic stress and fear disorders, *Nat. Neurosci.* 16 (2013) 146–153, <http://dx.doi.org/10.1038/nn.3296>.
- [58] B.A. van der Kolk, The body keeps the score: memory and the evolving psychobiology of posttraumatic stress, *Harv. Rev. Psychiatry* 1 (1994) 253–265.
- [59] B.M. Elzinga, J.D. Bremner, Are the neural substrates of memory the final common pathway in posttraumatic stress disorder (PTSD)? *J. Affect. Disord.* 70 (2002) 1–17.
- [60] A. Desmedt, A. Marighetto, P.-V. Piazza, Abnormal fear memory as a model for PTSD, *Biol. Psychiatry* 78 (2015) 290–297, <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopsych.2015.06.017>.
- [61] J.D. Shepard, J.M. Bossert, S.Y. Liu, Y. Shaham, The anxiogenic drug yohimbine reinstates methamphetamine seeking in a rat model of drug relapse, *Biol. Psychiatry* 55 (2004) 1082–1089, <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopsych.2004.02.032>.
- [62] E.B. Foa, C.P. McLean, The efficacy of exposure therapy for anxiety-related disorders and its underlying mechanisms: the case of OCD and PTSD, *Annu. Rev. Clin. Psychol.* (2015), <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-clinpsy-021815-093533>, annurev-clinpsy-021815-093533.
- [63] H.A. Baldwin, A.L. Johnston, S.E. File, Antagonistic effects of caffeine and yohimbine in animal tests of anxiety, *Eur. J. Pharmacol.* 159 (1989) 211–215.
- [64] H. Zheng, L. Rinaman, Yohimbine anxiogenesis in the elevated plus maze requires hindbrain noradrenergic neurons that target the anterior ventrolateral bed nucleus of the stria terminalis, *Eur. J. Neurosci.* 37 (2013) 1340–1349, <http://dx.doi.org/10.1111/ejn.12123>.
- [65] P. Gisquet-Verrier, J.F. Lynch, P. Cutolo, D. Toledano, A. Ulmen, A.M. Jasnow, et al., Integration of new information with active memory accounts for retrograde amnesia: a challenge to the consolidation/reconsolidation hypothesis? *J. Neurosci.* 35 (2015) 11623–11633, <http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1386-15.2015>.
- [66] M.-V. Chopin, C.-S. Peretti, P. Gisquet-Verrier, C. Hoffmann, A. Belaid, G. Chouinard, Cocaine use disorder treated with specific cognitive behavioral therapy and adjunctive propranolol, *Psychother. Psychosom.* 85 (2016) 61–63, <http://dx.doi.org/10.1159/000441036>.



## 2. Impact des indices de rappel sur le développement du TSPT.

### **Publication n°2**

---

## **Effets de réexpositions multiples à des indices de rappel associés à un traumatisme sur les rats résilients et vulnérables au TSPT.**

---

*Claire Le Dorze, Pascale Gisquet-Verrier*

### 2.1. But article

Si les indices de rappel sont au cœur de la pathologie de TSPT, nous ne savons pas si les reviviscences qu'ils engendrent ne sont que la conséquence du TSPT où bien s'ils peuvent être à l'origine du développement de la pathologie. Ce deuxième article examine la possibilité de moduler la force des symptômes de type TSPT en réexposant les animaux à des indices associés au traumatisme.

### 2.2. Que fait l'article

Cette étude s'intéresse à l'impact de réexpositions à des indices associés au traumatisme sur les symptômes de type TSPT. L'évolution et le décours de la réactivité à ces indices sont également étudiés ici, que ce soit chez les rats vulnérables ou résilients au traumatisme. Trois expériences ont été réalisées : la première s'intéresse à l'effet de 4 réexpositions à un indice prédictif du traumatisme, la deuxième compare l'effet de 4 et 8 réexpositions à ce même indice, et la dernière expérience étudie l'effet de 8 réexpositions à différents indices, ainsi que l'évolution des réactions de peur à ces indices.

### 2.3. Méthodes

Des études préalables ont montré que la réexposition à un indice prédisant un choc électrique (le compartiment sauf d'un dispositif d'évitement passif) permet d'amplifier les conséquences du choc électrique. Nous avons donc inséré un conditionnement d'évitement passif juste avant le SPS afin d'utiliser le compartiment « sauf » ou indice prédictif, comme

indice de réexposition. Les animaux soumis ou non au SPS sont réexposés aux indices de rappel pendant la période d'incubation de 2 semaines qui suit le traumatisme. Les symptômes de type TSPT sont ensuite testés pour vérifier leur présence et leur force. L'évolution de réactivité aux différents indices est étudiée chez les vulnérables et les résilients, ainsi que la possibilité de restaurer des réactions de peur par stress de contention servant de rappel du traumatisme.

## 2.4. Principaux résultats

L'ajout du conditionnement passif n'a pas d'effet sur les symptômes de type TSPT mais induit des réponses de peur indiquant que l'exposition à la boîte prédictive peut être utilisée comme indice de rappel.

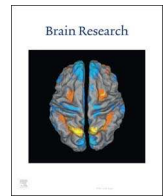
Lorsque les animaux sont soumis à 4 réexpositions à l'indice prédictif du traumatisme pendant la période d'incubation, des différences de comportements sont observées. Ces réexpositions amplifient certains symptômes du TSPT, tels que l'anxiété, la vigilance et les réactions de peur à un indice associé au traumatisme.

Lorsque ce nombre de réexpositions est porté à 8, que l'indice utilisé soit toujours le même ou qu'il soit différent, aucune modulation des symptômes de TSPT n'est obtenue, et une extinction des réponses de peur aux indices est parallèlement observée.

L'analyse des réponses enregistrées pendant l'exposition aux indices montre que si tous les animaux soumis au SPS (résilients et vulnérables) réagissent aux indices de rappel une semaine après le traumatisme, seuls les vulnérables montrent des réactions de peur à long terme. Un nouveau stress de contention est capable de restaurer la peur à l'odeur précédemment associée au SPS, mais il ne restaure pas les réactions de peur aux autres indices.

## 2.5. Conclusion

Cet article indique que les réexpositions sont capables d'augmenter la force des symptômes de type TSPT chez des rats SPS. Cependant cet effet semble être contrebalancé par des effets d'extinction qui se mettent en place après 8 réexpositions dans nos conditions. Ces résultats suggèrent que les réexpositions aux indices de rappel, et donc les reviviscences, sont impliquées dans le développement de TSPT, mais elles ne peuvent être considérées comme les seules responsables du développement de la pathologie.



## Research report

# Effects of multiple brief exposures to trauma-associated cues on traumatized resilient and vulnerable rats



Claire Le Dorze, Pascale Gisquet-Verrier\*

Neuro-PSI, Université Paris-Sud, CNRS UMR9197, Université Paris-Saclay, Orsay, France

## ARTICLE INFO

## Keywords:

Single Prolonged Stress (SPS)  
Trauma-associated cues  
Re-experiencing  
Vulnerability  
PTSD-like symptoms  
Rats

## ABSTRACT

Intrusive re-experiencing of a trauma is a core symptom in post-traumatic stress disorder (PTSD), and is often triggered by contextual cues associated with the event. It is not yet established if intrusive re-experiencing is the consequence of PTSD, or if it could contribute to the development of PTSD following a traumatic event. The present study (1) examined the impact of repeated brief re-exposures to trauma reminders on the strength of PTSD-like symptoms, as well as on their time-development and (2) investigated the reactivity over time to these cues in trauma resilient and vulnerable rats, defined on the basis of the PTSD-like symptoms they demonstrated.

Rats were exposed to a Single Prolonged Stress, combining three different stresses (2-h restraint, 20-min forced swim and CO<sub>2</sub> unconsciousness) delivered together with tone and odor cues and preceded by an inhibitory avoidance conditioning or a control procedure. During the following two weeks, reminded rats were briefly re-exposed to trauma-associated cues either 4 or 8 times.

The results indicated that 4 re-exposures to the same cue strengthened PTSD-like symptoms (anxiety, arousal, fear to trauma-cue). However 8 re-exposures to similar or different trauma-cues did not alter PTSD-like symptoms and led to a rapid extinction of the fear reactivity to these cues. The present results further indicated that shortly after trauma, both resilient and vulnerable rats strongly reacted to trauma-associated cues, while only vulnerable rats reacted long after the trauma, suggesting a slower loss of fear responses to trauma cues in these rats.

We concluded that re-experiencing may participate in, but cannot be solely responsible for, the development of long-term PTSD effects.

## 1. Introduction

Post-traumatic stress disorder (PTSD) is a debilitating disorder that develops in some people who have experienced a traumatic event. PTSD causes intrusive symptoms such as re-experiencing the traumatic event through vivid nightmares, flashbacks, or thoughts that occur in response to trauma cues. Re-experiencing which constitutes the core of the pathology, can be so realistic that the subjects often think they are living the trauma all over again, feeling the same emotions and the same physical sensations of what happened. The vividness of the re-experiencing leads patients to be exposed to repeated and persistent high levels of stress, and to developing anxiety, which might be associated with the progression of trauma-related pathologies and the development of related disorders (Pitman and Delahanty, 2005; Pitman, 1988).

In animals, intrusive re-experiencing can be addressed by the use of brief exposures to situational reminders of the traumatic episode. Some

studies indicate that re-exposures to reminders relative to an aversive conditioning can durably increase the strength of the fear responses (Inda et al., 2011). Concerning PTSD models, Pynoos et al. (1996) developed a procedure in mice combining a strong aversive stimulus with repeated (1–6) exposures to the experimental context in which this stimulus was delivered. They showed that this combination, thought to mimic trauma and re-experiencing, was associated with PTSD-like symptoms that were not obtained without any re-exposure to the context. This animal model has then been repeatedly used to investigate the biological basis of post-traumatic stress disorder (Cleren et al., 2013; Corral-Frias et al., 2013; Hawley et al., 2013; Olson et al., 2011). However, although these studies strongly suggest that repeated brief exposures to situational reminders can increase the strength of an aversive experience and transform it in a traumatic experience, they did not directly address the long term consequences that re-experiencing may have on PTSD development. This issue is the main goal of the present study. We recently showed that rats exposed to an animal

\* Correspondence to: Neuro-PSI, CNRS UMR 9197, Bat 446, Université Paris-Sud, 91405 Orsay, France.  
E-mail address: [pascale.gisquet@u-psud.fr](mailto:pascale.gisquet@u-psud.fr) (P. Gisquet-Verrier).

model of PTSD, the Single Prolonged Stress (SPS; Liberzon et al., 1997), combining 2-h restraint stress, followed by a 20-min forced-swim and a loss of consciousness produced by CO<sub>2</sub>, delivered together with tone and odor cues, developed PTSD-like symptoms (Toledano and Gisquet-Verrier, 2014). We further showed that a brief re-exposure to each of the different trauma-associated cues induced transient fear reactions, suggesting that these re-exposures were able to reactivate the trauma memory and thus to mimic re-experiencing in human (Le Dorze and Gisquet-Verrier, 2016).

In the present study, we explored the possibility that repeated brief exposures to trauma-associated cues, delivered shortly after the trauma, could durably increase PTSD-like symptoms. In addition, we explored whether spontaneous loss as well as extinction of the fear responses elicited by these different reminder cues in rats resulted in their being resilient or vulnerable to the trauma on the basis of their symptoms (Le Dorze and Gisquet-Verrier, 2016). For that purpose, rats were exposed to a SPS, preceded by weak inhibitory avoidance conditioning in order to induce additional cues, or a control procedure, involving the same conditions with no electrical shock. During the first two weeks, rats received 4 or 8, brief re-exposures to either identical or different trauma-associated cues. Re-exposed and non re-exposed rats were then evaluated for their reactivity to trauma-associated cues and to PTSD-like symptoms in order to determine the role that re-experiencing may have had on the strength of the pathology.

## 2. Results

### 2.1. Effect of re-exposures to the same reminder

#### 2.1.1. Experiment 1: Effects of 4 re-exposures on PTSD-like symptoms

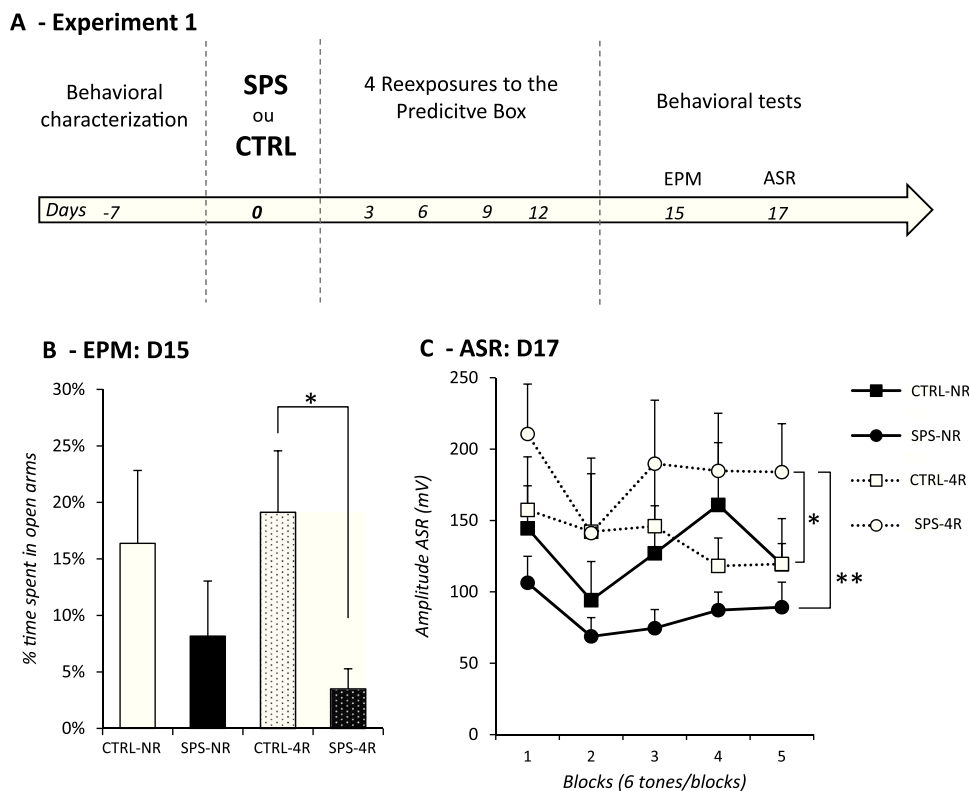
In the first Experiment (Fig. 1), rats underwent a Single Prolonged Stress (SPS) or a control procedure (CTRL), and half of them were re-

exposed 4 times (4R) to the predictive box (on day 3, 6, 9, and 12), while the other half remained in their cages (NR, not re-exposed). Rats were thus divided into 4 groups (CTRL-NR, CTRL-4R, SPS-NR, and SPS-4R; ns=8), according a 2 (trauma conditions) by 2 (reminder conditions) experimental design. Rats were then tested with the Elevated Plus Maze (EPM) and Acoustic Startle Response (ASR) tests..

**2.1.1.1. Anxiety: Elevated Plus Maze (EPM-D15, Fig. 1B).** A two-way ANOVA performed on percent of the time spent in open arms of the EPM revealed a SPS effect ( $F(1-28)=5.6, p=0.024$ ), with no Reminder effect ( $F < 1$ ), and no significant interaction between these two factors ( $F < 1$ ). Planned comparisons further indicated that the difference between SPS and CTRL groups reached a significant level only for the reminded rats ( $F(1-14)=7.46, p=0.015$ ).

**2.1.1.2. Arousal: Acoustic Startle Response (ASR-D17, Fig. 1C).** A two-way ANOVA performed on the 3 last blocks of the startle response test revealed a Reminder effect ( $F(1-28)=3.68, p=0.05$ ), with no SPS effect ( $F(1-28)=8.63, p=0.006$ ). Complementary analyses indicated that SPS tended to reduce the startle response in the non re-exposed (NR) rats ( $F(1-14)=3.43, p=0.08$ ), confirming our previous results, but significantly increased the ASR in the re-exposed (4R) rats ( $F(1-14)=5.26, p=0.03$ ). This opposite effect led to a significant difference between the SPS NR and SPS 4R groups ( $F(1-14)=13.68, p=0.002$ ).

**Experiment 1.** indicates that four re-exposures to the predictive box tended to increase anxiety and significantly altered arousal in SPS traumatized rats.



**Fig. 1.** Experiment 1: Behavioral performance of CTRL and SPS groups re-exposed (4R) four times to the predictive box (PB), or not re-exposed (NR). **A) Timeline of general protocol:** after a behavioral characterization (D-7), rats received a Single Prolonged Stress (SPS) at Day 0, or a control procedure (CTRL). From D3 to 12, rats were re-exposed or not to the predictive box. PTSD-like symptoms tests were investigated with an Elevated Plus Maze (EPM), and an Acoustic Startle Response (ASR) tests. **B) EPM, performed at Day 15:** percentage of time spent in open arms over a 5-min period. **C) ASR performed at Day 17:** mean startle amplitude (mV) obtained during the five blocks of six 115 dB tones. Data are expressed as mean ± standard error of the mean (SEM). \*.05 > p > 0.01; \*\*.01 > p > .001; \*\*\*p < .001.

2.1.2. Experiment 2: Effects of 4 or 8 re-exposures to the same reminder

This experiment was planned to determine whether the effects obtained after 4 re-exposures can be further increased after 8 re-exposures. For that purpose, three traumatized groups (ns=8), which were either non-reminded (SPS-NR) or reminded with 4 or 8 re-exposures to the predictive box (SPS-4R and the SPS-8R; See Fig. 2), were compared with a one-way ANOVA..

2.1.2.1. Effects on PTSD-like symptoms. As shown in Fig. 2B, there was no Group effect in the EPM test ( $F < 1$ ). Concerning the ASR taking place at D21, an ANOVA performed on the last three blocks of the startle responses revealed a Group effect ( $F(2-21)=3.87$ ,  $p=0.03$ ), with SPS-4R exhibiting larger startle responses than the non-reminded group ( $F(1-14)=4.29$ ,  $p=0.05$ ), and than the SPS-8R group ( $F(1-14)=5.43$ ,  $p=0.03$ ), and no difference between these latter groups.

When traumatized rats were exposed to the CO<sub>2</sub> box (D17), a trauma-associated cue, (Fig. 2D), the ANOVA performed on the percentage of freezing revealed a significant Group effect ( $F(2-19)=4.28$ ,  $p=0.028$ ), with SPS-4R rats exhibiting higher freezing levels than SPS-NR and SPS-8R groups ( $F(1-12)=4.6$ ,  $p=0.05$  and  $F(1-13)=8$ ,  $p=0.013$ , respectively), and no differences between the last two groups ( $F < 1$ ).

2.1.2.2. Effect of repeated re-exposures on the reactivity to the predictive box. Re-exposure to the predictive box on D18 (Fig. 2E) corresponded to the first exposure for SPS-NR rats, but the 5th and the

9th for SPS-4R and SPS-8R rats, respectively. A one-way ANOVA on these data indicated a Group effect ( $F(2-21)=6.83$ ,  $p=0.005$ ), with SPS-4R and SPS-8R groups showing significantly less freezing than the SPS-NR ( $F(1-14)=6.37$ ,  $p=0.023$ ;  $F(1-14)=8.70$ ,  $p=0.01$ , respectively), indicating that the reactivity to the predictive cue was extinguished after 4 and 8 re-exposures.

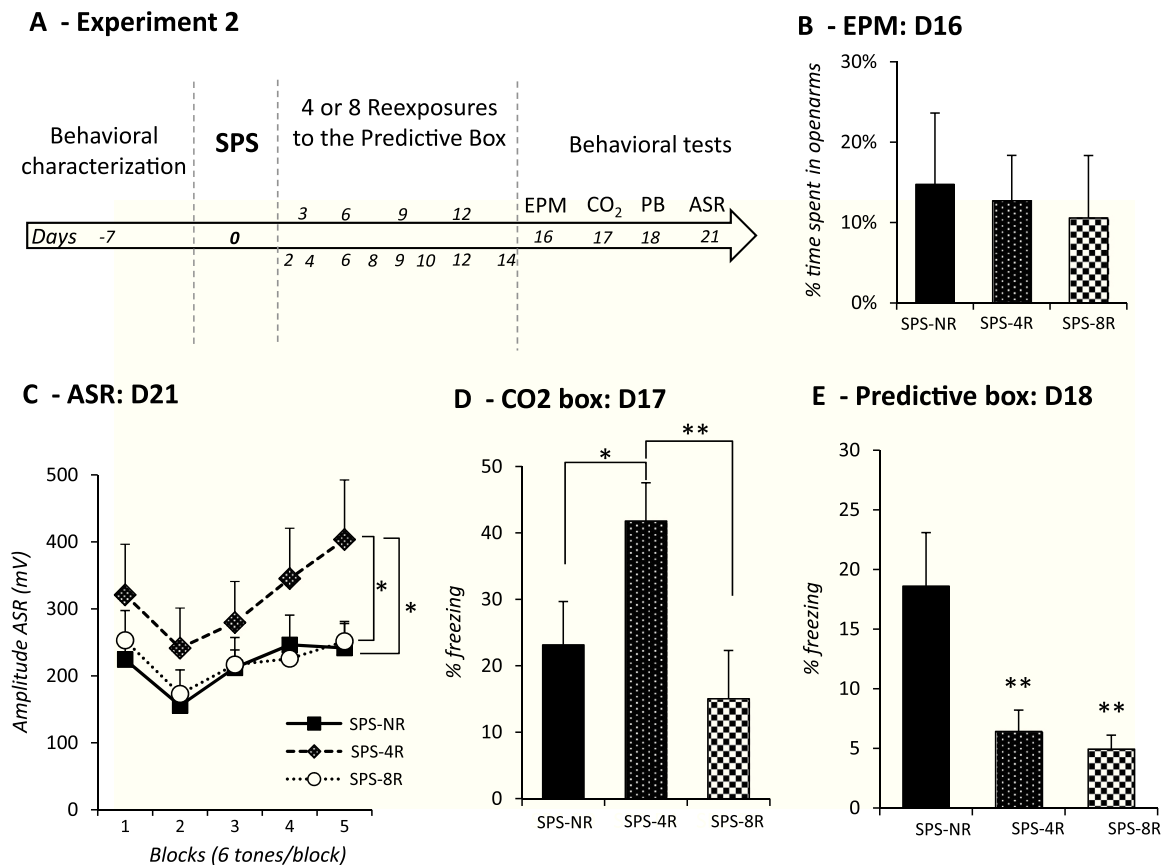
**Experiment 2.** confirmed that 4 re-exposures tended to potentiate some PTSD-like symptoms. This effect was not maintained after 8 re-exposures. In addition, 4 and 8 re-exposures to the same cue extinguished the fear reactivity to that cue.

2.2. Experiment 3: Effects of 8 re-exposures to different cues

In order to determine whether the lack of effect of 8 re-exposures to the same cue was due to the extinction of fear responses to that cue, it was decided to re-expose rats two times to 4 different reminder cues, known to be effective reminders (Le Dorze and Gisquet-Verrier, 2016). In addition, Experiment 3 was performed on a larger number of rats in order to separate them into Resilient (Res) and Vulnerable (Vuln), on the basis of their PTSD-like symptoms. Hence, the effects of 8 re-exposures, as well as fear reactivity to the different trauma-associated cues, were investigated shortly and long after the trauma according to a 3 (trauma conditions: Control, SPS-Resilient and SPS-Vulnerable) by 2 (reminder conditions: NR, 8R) factorial design (See Fig. 3A)..

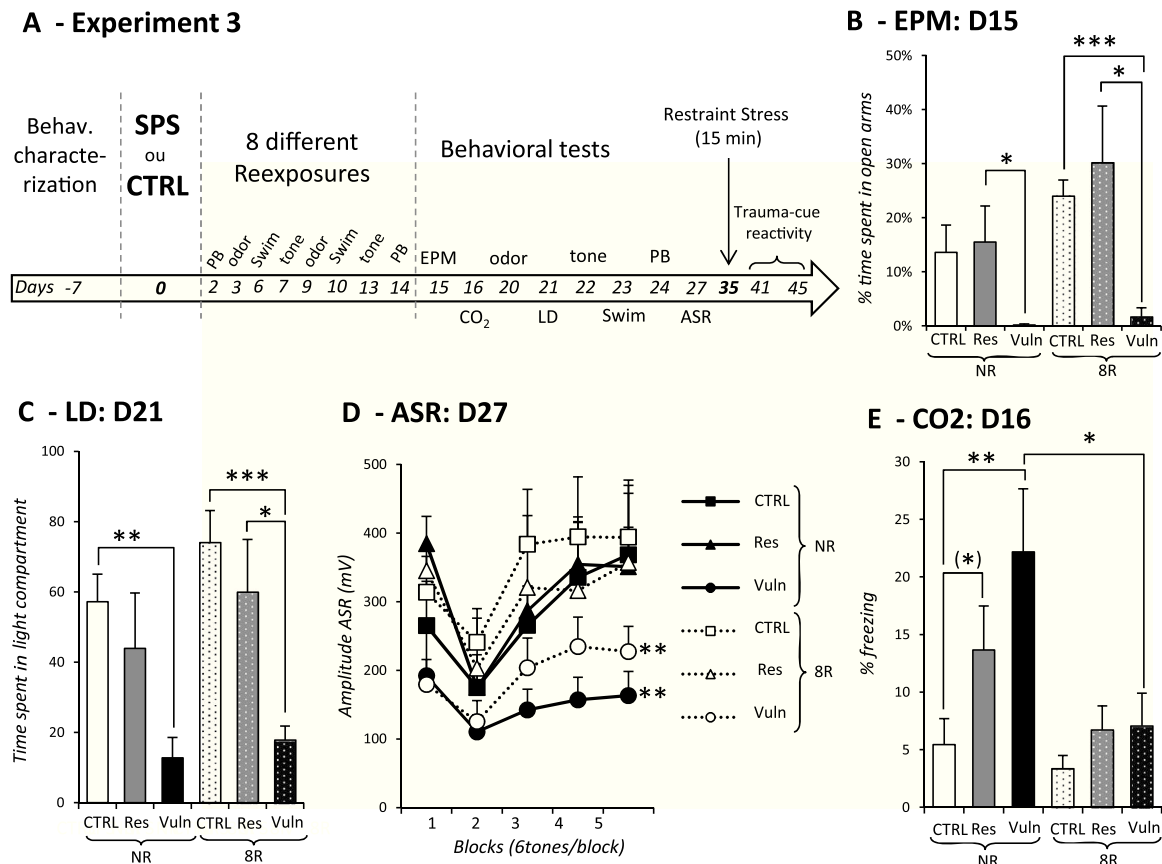
2.2.1. Rats classification

In this experiment, 12 out of the 24 SPS rats (50%) exhibited 2 or 3



**Fig. 2.** Experiment 2: Behavioral performance of SPS groups re-exposed four (4R) or eight times (8R) or not re-exposed (NR), to the predictive box (PB). **A) Timeline of general protocol:** rats received a Single Prolonged Stress at Day 0 and were re-exposed or not to trauma-associated cues, from D2 to D14, before being investigated for PTSD-like symptoms and reactivity to trauma-associated cues. **B) EPM, performed at Day 16:** percentage of time spent in open arms, during a 5-min period. **C) ASR performed at Day 21:** mean startle amplitude (mV) obtained during the five blocks of six 115 dB tones. **D) Exposure to the CO<sub>2</sub> box at Day 17:** mean amount of freezing during a 90-sec period. **E) Exposure to the predictive box at Day 18:** mean amount of freezing during a 60-sec period with the guillotine door closed. Data are expressed as mean ± standard error of the mean (SEM). \*.05 > p > 0.01; \*\*.01 > p > 0.001.





**Fig. 3. Experiment 3:** Behavioral performance obtained for CTRL, SPS Resilient and Vulnerable groups, re-exposed 8 times (8R) or not to the predictive box (PB). **A) Timeline of general protocol:** Rats were exposed to Single Prolonged Stress at Day 0 or just exposed to a control procedure (CTRL). They were then re-exposed or not to trauma-associated cues from D2 to D14. PTSD-like symptoms tests and reactivity to trauma associated cues were investigated from D15. **B) EPM performed at Day 15:** percentage of time spent in open arms, during a 5-min period. **C) Light-Dark (LD) test performed at Day 21:** mean time spent in the light compartment (secs) during a 5-min period. **D) ASR performed at Day 27:** mean startle amplitude (mV) obtained during the five blocks of six 115 dB tones. **E) Exposure to the CO<sub>2</sub> box at Day 16:** mean amount of freezing during a 90-sec period. Data are expressed as mean  $\pm$  standard error of the mean (SEM). \* $.05 > p > 0.01$ ; \*\* $.01 > p > 0.001$ ; \*\*\* $p < .001$ .

symptoms on the basis of their performance obtained in the Elevated Plus Maze (EPM), Light-Dark (LD) and Acoustic Startle Response (ASR) tests, and were therefore considered as Vulnerable (Vuln) to the trauma. Six different groups were thus considered: three non re-exposed groups (CTRL-NR  $n=12$ , SPS-NR-Res  $n=6$  and SPS-NR-Vuln  $n=6$ ), and three re-exposed groups (CTRL-8R  $n=12$ , SPS-8R-Res  $n=6$  and SPS-8R-Vuln  $n=6$ ).

### 2.2.2. PTSD-like symptoms and vulnerability

Since rats were classified on the basis of the EPM, LD and ASR tests, Vulnerable rats were expected to differ from Control for these three tests.

Behavioral tests were assessed just after the re-exposures (D15 to D31), and a second time (D41 to D45). On day 35, all rats were exposed to a 15 min-restraint stress to reactivate the trauma and their reactivity to trauma-associated cues were tested from D41 to D45.

**2.2.2.1. Anxiety: Elevated Plus Maze test (EPM-D15).** A two-way ANOVA performed on the percentage of time spent in open arms of the EPM (Fig. 3B) revealed a Trauma effect ( $F(2,42)=7.83$ ,  $p=0.0013$ ) as well as a Reminder effect ( $F(1,42)=3.84$ ,  $p=0.05$ ), with no interaction between these two factors ( $F < 1$ ). As expected, complementary analyses indicated that SPS-Vuln rats were significantly more anxious than SPS-Res and CTRL groups ( $F(1,20)=12.22$ ,  $p=0.002$ ;  $F(1,32)=17.63$ ,  $p < 0.001$ , respectively). Vulnerable rats significantly differed from the Resilient rats in both non re-exposed and re-exposed conditions ( $F(1,10)=5.25$ ,  $p=0.043$  and  $F(1,10)=7.22$ ,  $p=0.02$ , respectively), but only from CTRL in the re-exposed condition

( $F(1,16)=25.26$ ,  $p < 0.001$ ). In fact, probably due to the more extensive manipulation, re-exposures tended to reduce anxiety in the CTRL and the Resilient rats, but not in Vulnerable rats.

**2.2.2.2. Anxiety: Light-Dark test (LD-D23).** Results obtained in the Light-Dark test were very similar to those obtained in the EPM test (Fig. 3C): a significant Trauma effect was obtained on the time spent in the lighted part of the box ( $F(2,42)=12.30$ ,  $p < 0.0001$ ), but there was no Re-exposure effect ( $F(1,42)=2.08$ ,  $p=0.15$ ), and no interaction ( $F < 1$ ). A Trauma effect was obtained for both non re-exposed ( $F(2,21)=5.03$ ,  $p=0.016$ ) and re-exposed groups ( $F(2,21)=7.34$ ,  $p=0.004$ ). Vulnerable rats differed from CTRL for both reminder conditions ( $F(1,16)=13.96$ ,  $p=0.0018$ , for NR and  $F(1,16)=17.64$ ,  $p < 0.001$  for 8R), but only from Resilient rats for the re-exposed rats ( $F(1,10)=7.35$ ,  $p=0.021$ ).

**2.2.2.3. Arousal: Acoustic Startle Response (ASR-D27).** As expected, ANOVA performed on the last three blocks of acoustic startle response test (Fig. 3D) indicated a Trauma effect ( $F(2,42)=3.95$ ,  $p=0.026$ ), with no Re-exposure effect ( $F(1,42)=1.32$ ,  $p=0.25$ ) and no interaction ( $F < 1$ ) between these factors. As in our previous experiments, Vulnerable rats exhibited lower startle responses than the CTRL rats ( $F(1,31)=5.37$ ,  $p=0.025$ ) and the Resilient rats ( $F(1,20)=14.98$ ,  $p=0.001$ ). This effect was obtained for both non re-exposed and re-exposed rats.

**2.2.2.4. CO<sub>2</sub> box (D16).** Rats were tested for their fear responses to the CO<sub>2</sub> box, a trauma-associated cue which was not used during re-exposures (Fig. 3E). ANOVA performed on the percentage of freezing indicated a significant Trauma effect ( $F(2-42)=7.27$ ,  $p=0.002$ ), as well as a Reminder effect ( $F(1-42)=11.44$ ,  $p=0.001$ ) and an interaction between Trauma and Reminder which fell just short of significance ( $F(2-42)=2.77$ ,  $p=0.07$ ). The Trauma effect was only obtained in NR rats ( $F(2-21)=5.98$ ,  $p=0.008$ ), with SPS-Vuln rats exhibiting significantly more freezing than the CTRL ( $F(1-15)=11.34$ ,  $p=0.004$ ) and SPS-Res rats which tended to freeze more than the CTRL ( $F(1-16)=3.86$ ,  $p=0.06$ ). The Reminder effect was only obtained for Vulnerable rats which demonstrated a significant decrease of their fear responses to the CO<sub>2</sub> box following 8 re-exposures to other trauma-related cues ( $F(1-10)=5.95$ ,  $p=0.03$ ).

**2.2.2.5. SPS vulnerability (D-7).** In this experiment, it was possible to determine the pre-trauma level of anxiety for control, resilient and vulnerable rats with the help of the first EPM test administered just before the SPS, (Fig. 4A). A one way ANOVA performed on the percentage of time spent in open arms revealed a Group effect ( $F(2-42)=5.13$ ,  $p=0.01$ ), with Vulnerable being significantly more anxious than Resilient rats ( $F(1-20)=12.27$ ,  $p=0.002$ ). In all, 75% of the anxious rats (66% for NR and 83% for 8R groups) became vulnerable to the SPS, while 25% of them became Resilient (Fig. 4B), a difference which reached a significance level ( $X^2=48.02$ ,  $p < 0.001$ ).

*The present results confirmed that SPS had behavioral consequences only in a subset of the traumatized rats. These Vulnerable rats largely differed from the Resilient and Control rats, while these two latter groups behaved similarly. Delivering eight re-exposures to different trauma-associated cues did not affect PTSD-like symptoms but decreased the reactivity to a trauma-associated cue which was not used during re-exposures.*

### 2.2.3. Development of fear reactivity to trauma-associated cues

In Experiment 3, re-exposed rats were exposed four times to the predictive box, the forced-swim tank, the trauma-associated tone, and odor cues: two times during the re-exposure period, one time, long after the trauma, together with the non re-exposed rats, and a last time after a reminder stress. The amount of freezing obtained during these repeated tests allowed us to determine the time development of the fear responses to these cues (Fig. 5A–D). In addition, fear reactions obtained in the three different groups for a particular cue can be determined shortly after the SPS (1st re-exposure to that cue for re-exposed rats; Fig. 5A–D) and long after the SPS (1st re-exposure to that cue for non re-exposed rats; Fig. 5E–H).

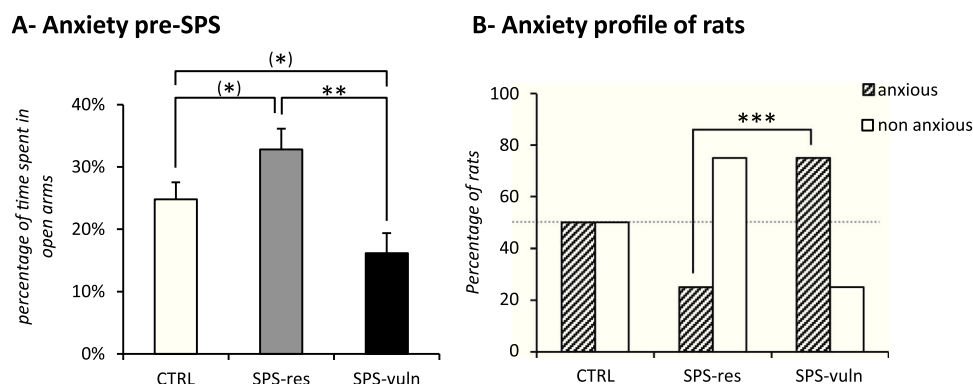
### 2.2.3.1. Effect of repetitive re-exposures to trauma-associated cues

**2.2.3.1.1. Predictive box (Fig. 5A).** During exposures to the predictive box, a two-way ANOVA revealed a Group effect ( $F(2-21)=10.21$ ,  $p < 0.001$ ), a Repetition effect ( $F(3-63)=15.26$ ,  $p < 0.001$ ) and an interaction between Group and Repetition ( $F(6-63)=9.86$ ,  $p < 0.001$ ). Higher levels of freezing than CTRL were obtained at D2 for SPS-Res ( $F(1-16)=20.56$ ,  $p < 0.001$ ) and SPS-Vuln ( $F(1-16)=35.82$ ,  $p < 0.001$ ) and at D14 for SPS-Vuln than for CTRL ( $F(1-16)=6.72$ ,  $p=0.018$ ). Extinction of freezing was obtained both for SPS-Res ( $F(2-10)=5.86$ ,  $p=0.02$ ) and SPS-Vuln rats ( $F(2-10)=10.51$ ,  $p=0.003$ ). The restraint stress (D35) had no effect on the freezing to this cue ( $F < 1$ , D45).

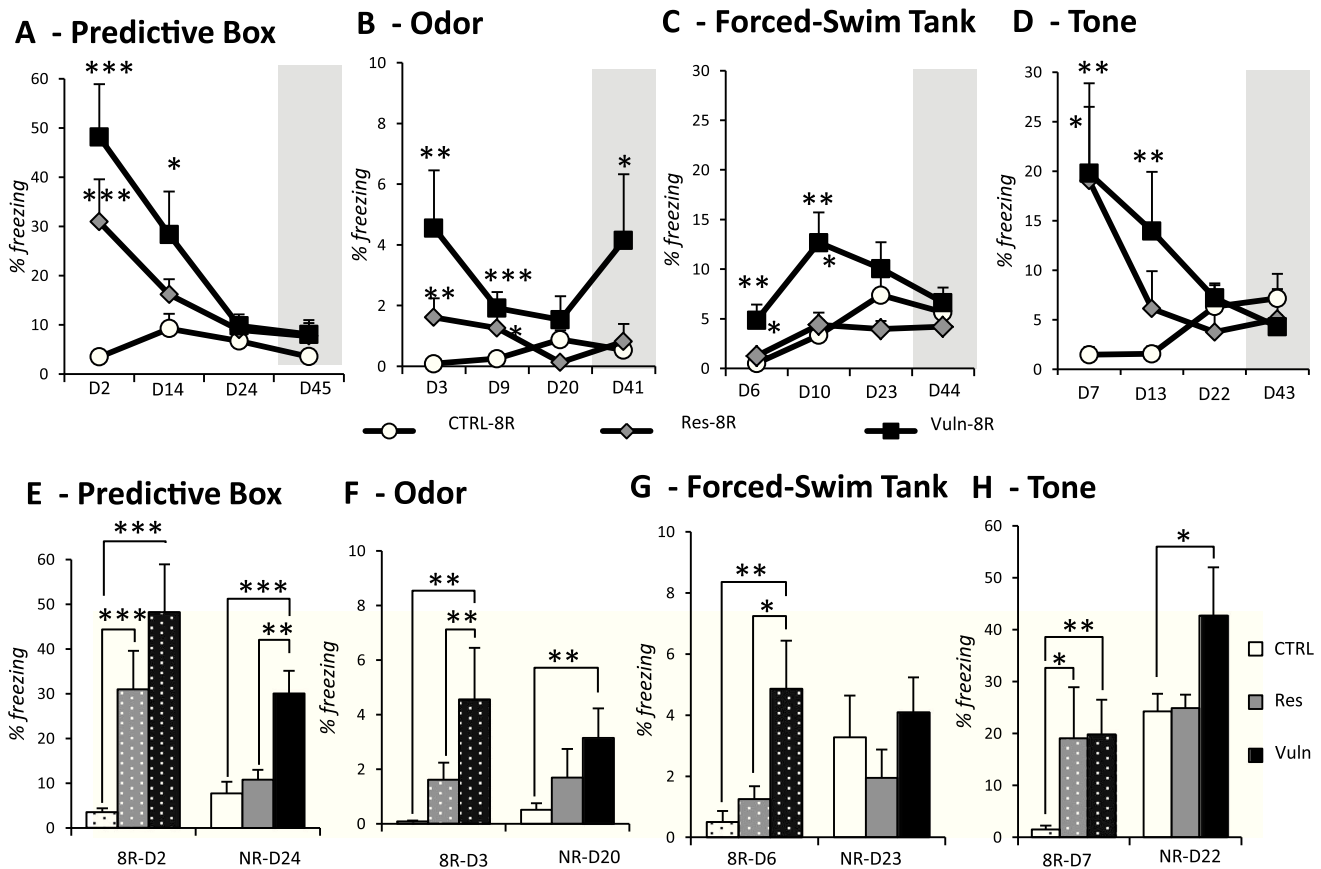
**2.2.3.1.2. Odor (Fig. 5B).** A two-way ANOVA performed on the amount of freezing, obtained while rats were placed in a novel box with the trauma-associated odor, revealed a main effect of Group ( $F(2-21)=6.98$ ,  $p=0.004$ ), no effect of Repetition, but an Interaction between Group and Repetition ( $F(6-63)=2.84$ ,  $p=0.01$ ). Vulnerable rats differed from CTRL during the first two exposures only ( $F(1-16)=11.85$ ,  $p=0.003$ ;  $F(1-16)=17.24$ ,  $p < 0.001$ ), and from Resilient rats ( $F(1-16)=12.26$ ,  $p=0.002$  and  $F(1-16)=6.59$ ,  $p=0.019$ ), with no effect at D20 indicating an extinction. Six days after the restraint stress reminder, rats differentially reacted to the odor ( $F(2-21)=3.72$ ,  $p=0.04$ ), with Vulnerable rats exhibiting higher levels of freezing than the CTRL rats ( $F(1-16)=5.63$ ,  $p=0.029$ ), indicating a reinstatement of the fear response in these rats.

**2.2.3.1.3. Forced-swim tank (Fig. 5C).** When rats were placed in the water tank serving for the SPS forced-swim with the support filled with 2 cm deep of water, a significant Group effect was obtained on the amount of freezing ( $F(2-21)=5.57$ ,  $p=0.011$ ) with a Repetition effect ( $F(3-63)=8.43$ ,  $p < 0.001$ ) but no significant Interaction ( $F(6-63)=2.0$ ,  $p=0.07$ ). The Group effect was obtained at D6 ( $F(2-21)=8.41$ ,  $p=0.002$ ), at D10 ( $F(2-21)=6.19$ ,  $p=0.007$ ), but not at D23 ( $F(2-21)=1.92$ , ns), indicating a decrease in reactivity for Vulnerable rats which was different from the two other groups only during the two first exposures. The restraint stress (D35) had no effect on the freezing to this cue ( $F < 1$ , D44).

**2.2.3.1.4. Tone (Fig. 5D).** A two-way ANOVA performed on the amount of freezing, obtained when rats were exposed to the trauma-associated tone, indicated a Group effect ( $F(2-21)=3.93$ ,  $p=0.03$ ), no Repetition effect ( $F(3-63)=2.39$ ,  $p=0.1$ ), but a significant interaction between Group and Repetition ( $F(6-63)=4.59$ ,  $p < 0.001$ ). Planned comparisons further indicated a Group effect at D7 ( $F(2-21)=4.68$ ,  $p=0.02$ ), and D13 ( $F(2-21)=4.11$ ,  $p=0.03$ ), but not at D22 ( $F < 1$ , D43). During exposures, Vulnerable rats showed extinction behavior ( $F(2-10)=3.49$ ,  $p=0.04$ ). This effect did not reach a significant level for



**Fig. 4.** Anxiety profile of traumatized rats **A)** EPM performed at day -7: percentage of time spent in open arms, during a 5-min period. **B)** Anxiety profile: percentage of anxious or non-anxious rats among each group of rats.



**Fig. 5. Experiment 3:** Reactivity to the trauma-associated cue: (A–D) Development of fear responses obtained in SPS Resilient and Vulnerable groups during each re-exposure to a cue. The gray column indicates the re-exposure occurring after a 15-min restraint stress taking place on Day 35. **A) Exposure to the predictive box:** mean amount of freezing obtained during a 60-sec period at Day 2, 14, 24 and 45. **B) Exposure to the odor:** mean amount of freezing obtained during a 90-sec period at D3, 9, 20 and 41. **C) Exposure to the forced-swim tank:** mean amount of freezing obtained during a 90-sec period at Day 6, 10, 23 and 44. **D) Exposure to the tone:** mean amount of freezing obtained during a 90-sec period at Day 7, 13, 22 and 43. (E–H) Fear responses obtained in SPS Resilient, Vulnerable and CTRL groups during the first re-exposure to the cue, occurring shortly after trauma for the re-exposed (8R) and long after for the non re-exposed rats. **E) Exposure to the predictive box:** mean amount of freezing during a 60-sec period obtained at Day 2 for -8R groups and Day 24 for -NR groups. **F) Exposure to the odor:** mean amount of freezing during a 90-sec period obtained at Day 3 for -8R groups and Day 20 for -NR groups. **G) Exposure to the forced-swim tank:** mean amount of freezing during a 90-sec period obtained at Day 6 for -8R groups and Day 23 for -NR groups. **H) Exposure to the tone:** mean amount of freezing during a 90-sec period obtained at Day 7 for -8R groups and Day 22 for -NR groups. Data are expressed as mean  $\pm$  standard error of the mean (SEM). \* $.05 > p > 0.01$ ; \*\* $.01 > p > 0.001$ ; \*\*\* $p < .001$ . (A–D): \* above the curve=compared to CTRL. \* Below the curve=compared to Res.

Resilient rats ( $F(2-10)=2.94$ ,  $p=0.06$ ).

*The repetition of exposures induces a progressive decrease of fear responses to the different trauma-associated cues in SPS rats which was more rapid for the Resilient than for the Vulnerable rats. After extinction, a reminder stress reinstated the reactivity the trauma-associated odor.*

### 2.2.3.2. Effect of the length of the time delay on the reactivity to trauma-associated cues

**2.2.3.2.1. Predictive box (Fig. 5E).** A two-way ANOVA performed on the percentage freezing obtained during exposures to the predictive box indicated a Group effect ( $F(2-42)=25.17$ ,  $p < 0.001$ ), a Delay effect ( $F(1-42)=7.65$ ,  $p=0.008$ ), and a significant interaction between these two factors ( $F(2-42)=4.52$ ,  $p=0.016$ ). At D2, Vulnerable and Resilient rats showed higher levels of freezing than Control rats ( $F(1-16)=35.82$ ,  $p < 0.001$ ;  $F(1-16)=20.56$ ,  $p < 0.001$ , respectively). At D24, only Vulnerable rats demonstrated more freezing than the two other groups (vs CTRL:  $F(1-16)=19.15$ ,  $p < 0.001$ ; vs SPS-Res:  $F(1-10)=12.34$ ,  $p=0.005$ ).

**2.2.3.2.2. Odor (Fig. 5F).** Analyses on the amount of freezing indicated a Group effect ( $F(2-42)=10.86$ ,  $p < 0.001$ ), with no Delay

effect ( $F < 1$ ), and no interaction between these two factors ( $F < 1$ ). At D3, both SPS-Vuln and SPS-Res groups exhibited more freezing than the CTRL ( $F(1-16)=11.85$ ,  $p=0.003$ ,  $F(1-16)=12.26$ ,  $p=0.002$ , respectively), while at D20, only the SPS-Vuln differed from the CTRL ( $F(1-16)=10.34$ ,  $p=0.005$ ).

**2.2.3.2.3. Forced-swim tank (Fig. 5G).** Statistical analyses of the time spent freezing during the exposure to the empty tank revealed a Group effect ( $F(2-42)=3.62$ ,  $p=0.034$ ) with no effect of Delay ( $F < 1$ ) and no interaction between these two factors ( $F(2-42)=1.46$ , ns). The Group effect was only obtained at D6 ( $F(2-21)=8.42$ ,  $p=0.002$ ), with Vulnerable rats showing higher freezing levels than control and Resilient rats ( $F(1-16)=13.17$ ,  $p=0.002$  and  $F(1-10)=4.89$ ,  $p=0.048$ , respectively).

**2.2.3.2.4. Tone (Fig. 5H).** Two-way ANOVA performed on freezing indicated a Group effect ( $F(2-42)=3.79$ ,  $p=0.002$ ), a Delay effect ( $F(1-42)=15.59$ ,  $p < 0.001$ ) with no interaction between these two factors. When rats were first exposed to the tone at D7, higher levels of freezing were obtained for SPS-Vuln ( $F(1-16)=15.05$ ,  $p=0.0013$ ) and SPS-Res rats ( $F(1-16)=6.61$ ,  $p=0.019$ ), when compared to the CTRL rats. At D22, only SPS-Vuln showed a higher level of freezing than CTRL rats ( $F(1-16)=5.35$ ,  $p=0.032$ ).

Shortly after SPS, all traumatized rats, Vulnerable and Resilient, demonstrated clear fear reactions when exposed to the different trauma-associated cues, while long after the trauma, only Vulnerable rats maintained their fear reactions.

### 3. Discussion

#### 3.1. Consequences of a traumatic experience

In the present study, rats exposed to the Single Prolonged Stress (SPS) exhibited some PTSD-like symptoms, reproducing previous results obtained in similar conditions (Toledano and Gisquet-Verrier, 2016, 2014; Toledano et al., 2013). These rats exhibited higher levels of anxiety that was seen with the Elevated Plus Maze, and with the Light-Dark tests, associated with significant alterations of arousal. When rats were identified as Resilient and Vulnerable, the results showed that Vulnerable rats were the only ones to demonstrate increased fear reactions to various trauma-associated cues such as the predictive box, the CO<sub>2</sub> box, the tone and odor associated with the SPS. In most of these circumstances, Vulnerable rats exhibited behavioral performance that significantly differed from both Resilient and control rats, which behaved similarly, reproducing previous results obtained in similar conditions (Le Dorze and Gisquet-Verrier, 2016). The present results further indicate that the level of anxiety demonstrated by the rats before the trauma is a good predictor of their vulnerability to the SPS, confirming previous results obtained in similar conditions (Le Dorze and Gisquet-Verrier, 2016).

Concerning the reactivity to different trauma-associated cues, our results indicated that shortly after the trauma (2–8 days after SPS for re-exposed rats), both Resilient and Vulnerable traumatized rats reacted to the predictive box, the tone and the odor cues. The amounts of freezing were somewhat higher in Vulnerable than in Resilient rats, but were never significantly different (except for the forced-swim tank), and both groups of rats exhibited higher levels of freezing than control rats. However, when the first exposure occurred long after the trauma (20–24 days after SPS for non re-exposed rats), only Vulnerable rats exhibited more freezing than control rats, while Resilient reacted like control rats. Hence, fear reactivity to trauma-associated cue spontaneously decreased over time, and vanished in Resilient traumatized rats, while remaining at a high level for Vulnerable rats, reproducing a PTSD characteristic frequently mentioned but seldom demonstrated (Korem and Akirav, 2014).

Concerning fear responses elicited by trauma-associated cues we already noted that during the re-exposures, i.e. shortly after the trauma, both Resilient and Vulnerable SPS rats exhibited fear reactions when exposed for the first time to these cues. Freezing rapidly decreased and no difference between traumatized and control rats was obtained by the third exposure to these cues. However, Vulnerable rats demonstrated higher fear reactions than Resilient rats, which remained higher than those of control rats during the first two re-exposure, while Resilient rats extinguished their fear responses more rapidly (see Fig. 5A–D). After 4 and 8 re-exposures, the fear reactivity to the re-exposed cues were totally abolished (See Fig. 2A), while PTSD-like symptoms were still there, showing a dissociation between both phenomena. Interestingly, after 8 re-exposures, whether similar (Exp2) or different reminders (Exp3) were used, SPS rats no longer reacted to the CO<sub>2</sub> box, a trauma-associated cue not used during the re-exposures. This effect, not observed after only 4 re-exposures (Exp2), was possibly due to the extinction of re-exposed cues that generalized to other trauma-associated cues. However, it is important to emphasize that the extinction is not permanent since a reminder stress delivered long after the trauma was able to reinstate the fear to the trauma-associated odor, a cue known to be a powerful reminder in PTSD patients (Hinton et al., 2004; Vermetten et al., 2007).

All these results confirmed that SPS is a reliable PTSD animal model, and that all traumatized rats noticed the different cues during

trauma exposure and expressed fear reactions shortly after the trauma. However, long after the trauma, Vulnerable rats are the only ones still displaying fear reactions to these cues, confirming our previous results (Le Dorze and Gisquet-Verrier, 2016).

#### 3.2. Long-term effects of 4 brief re-exposures to trauma-associated cues

While numerous studies showed that exposure to reminders have transient effects on the retention performance, as well as on anxiety-like behavior (Ardi et al., 2016, 2014; Gisquet-Verrier and Riccio, 2012; Korte et al., 1999; Perrine et al., 2016), and brain plasticity (Ritov et al., 2014), only a limited number of studies reported long term consequences of re-exposures. For example, it has been shown that a single exposure to a situational reminder delivered 7 days after a multiple stress treatment (electrical footshock plus forced swim) potentiated the effects of the multiple stress on locomotor activity and extinction to fear context, 30 days after the initial stress (Ryoke et al., 2014). In a series of experiments based on inhibitory avoidance, three reminder re-exposures were shown to strengthen memory when delivered shortly after conditioning, but to promote extinction when delivered long after (Inda et al., 2011). After a single but severe electrical shock, Pynoos et al. (1996) reported enhanced startle reflexes in an acoustic startle response test after 6 re-exposures (one per week) to a situational reminder, when compared with non re-exposed mice.

Here, we showed that four exposures to the predictive box, a reminder eliciting trauma-related fear reactions (Le Dorze and Gisquet-Verrier, 2016), delivered shortly after the SPS procedure induced some effects that were maintained over time. This treatment tended to increase anxiety 3 days after the last re-exposure, when tested with the EPM test, and largely increased fear reactions to the CO<sub>2</sub> box, a trauma-associated cue also known to trigger fear reactions (Le Dorze and Gisquet-Verrier, 2016). In addition, rats re-exposed 4 times to the reminder exhibited significantly higher startle responses than non re-exposed traumatized rats, 5–7 days later (Exp1 and Exp2). In our conditions, SPS always affected arousal by decreasing the amplitude of the startle response (Le Dorze and Gisquet-Verrier, 2016; Toledano and Gisquet-Verrier, 2016, 2014; Toledano et al., 2013). PTSD in humans is generally associated with an increase of arousal and the magnitude of the acoustic startle response is generally used to investigate the level of arousal. However, the relationship between PTSD and startle responses is actually less clear than it appears. It has been shown that stress can either increase or decrease the startle amplitude depending on experimental conditions (Adamec et al., 2007). Decreases in startle responses have been reported both in PTSD patients (Klorman et al., 2003; Medina et al., 2001; Ornitz and Pynoos, 1989), and in rats exposed to a PTSD model (Conti and Printz, 2003; Gonzales et al., 2008). In the present experiments, SPS induced a significant decrease of the startle response, as was found in our previous studies. While four re-exposures to the predictive box did not affect the startle response of control rats, they significantly and durably increased the magnitude of the acoustic startle response of the reminded rats when compared to the non-reminded ones. Although it is difficult to interpret this latter result, the present experiment clearly indicated that four exposures to the same reminder significantly altered the arousal of traumatized rats and increased anxiety and fear reactions, supporting prior results obtained after 2–6 reminder brief re-exposures (Korem and Akirav, 2014; Olson et al., 2011; Pynoos et al., 1996).

#### 3.3. Long-term effects of 8 brief re-exposures to trauma-associated cues

The effects obtained after 4 re-exposures to the predictive box did not persist after 8 re-exposures. The startle responses, which was largely increased after 4 re-exposures, no longer differed from those

obtained for non-re-exposed rats. The fear reactions to the CO<sub>2</sub> box, which were enhanced after 4 re-exposures, were similar to those obtained in the non re-exposed rats after 8 re-exposures. Indeed, long-term consequences of SPS in those re-exposed rats were somewhat stronger than those obtained in non re-exposed rats. However, these effects were mainly due to the manipulations associated with re-exposures, which tended to reduce anxiety and increase the startle response in control and Resilient rats, while having no effect on re-exposed rats. Hence, 8 re-exposures to a situational reminder were thus unable to increase PTSD-like symptoms whether the reminders were different or not.

### 3.4. Conclusions

Our results show that multiple brief memory reactivations, performed shortly after a trauma, can strengthen long-term trauma consequences. However, this effect, observed here after 4 re-exposures, has always been reported after a limited number of re-exposures (Inda et al., 2011; Korem and Akirav, 2014; Pynoos et al., 1996; Ryoike et al., 2014). The present results further indicated that, simultaneously, re-exposures to reminders also result in rapid extinction of fear reactions to trauma-related cues, which can generalize to other trauma-associated cues, without reducing the strength of the PTSD-like symptoms. However, extinction does not seem permanent as a reminder stress may reinstate cue-induced fear reactions.

We conclude that re-experiencing induced by exposures to situational reminders has a real but restricted effect on the long-term consequences induced by a trauma, indicating that re-experiencing cannot be considered as the only factor responsible for the progression of trauma-related pathologies and the development of long-term PTSD effects. These findings have implications for designing clinical therapies and suggest that extinction of trauma-associated cues can have some benefits, especially in reducing re-experiencing, but has to be completed by other approaches, such as emotional remodeling (Chopin et al., 2016; Toledano and Gisquet-Verrier, 2014; Le Dorze and Gisquet-Verrier, 2016), to weaken trauma-induced pathologies more completely and durably.

## 4. Material and methods

### 4.1. Animals

The subjects were 104 male Sprague Dawley rats weighing 250–275 g upon arrival, from Harlan Laboratories, France. The rats were housed in pairs under a 12 h light/dark cycle (lights on at 07:30), with food and water available ad libitum. They were habituated to the colony room at least 14 days prior to the start of the experiment, then handled, numbered and weighed. All efforts were made to minimize the number of animals used and their discomfort. All experiments were approved by the ethics committee “Ile-de-France” Paris 1 (ethics approval number 2012-0004) and in accordance with the European Communities Council Directive [2010/63/EU, 22 September 2010].

### 4.2. Behavioral protocols

During all the behavioral tests presented below, rats were returned to their home cage at the end of the test, and the experimental device was cleaned with a 70% ethanol solution (except for odor tests for which water was used).

**4.2.1. Video tracking system.** A flexible video tracking system (ANY-maze™, Stoelting Co, Wood Dale, USA) was used for automated scoring in the elevated plus maze, light-dark box and reactivity to trauma-associated cues tests. A video camera was placed above or next to the apparatus and the information was relayed to a monitor in an adjoining room to score the behavior in real time. The measure of freezing, defined as the absence of all movement, except for respiratory, was made manually, during exposures to trauma-associated cues, with

the help of an ethologic homemade key board by an experienced experimenter. All behavioral tests were done under blind conditions.

### 4.2.2. Trauma design

**4.2.2.1. Inhibitory avoidance task.** The inhibitory avoidance took place in a plexiglas chamber (49×22×21 cm) separated by a sliding door dividing it into two equal size compartments: one black and one white. The floor in the black compartment consisted of metal grids spaced 1.2 cm apart, and the grids were connected to a shock source. A 40 W bulb was suspended above the center of the white compartment.

Each rat was placed in the white compartment for 1.5 min, then the light was turned on and the sliding door separating the two compartments was opened. Once the rat entered the black compartment, the sliding door was closed and two footshocks (0.5 s; 0.5 mA) were delivered 5 and 10 s later. Immediately thereafter, rats were exposed to the Single Prolonged Stress. The controls rats were placed in the same conditions but did not receive any shocks. Exposure to the safe white compartment has been shown to be a very effective reminder which predicts the trauma, without being a part of it (Le Dorze and Gisquet-Verrier, 2016).

**4.2.2.2. Single Prolonged Stress.** Single Prolonged Stress (SPS) was induced in the presence of additional cues, including a tone (metronome pulsations -120 bpm- present throughout SPS) and an odor (acetophenone – Sigma-Aldrich, 5 μL – soaked in a piece of cotton wool placed in proximity to the restraint container), later used as trauma-associated cues. Rats were first restrained for 2 h in a transparent conical Plexiglas restriction container (21×7.5 cm) with a hole in the small end of the cone allowing rats to breath. Immediately thereafter, rats were placed for 20 min in a water tank (57.5 cm of depth; 26.5 cm of diameter) filled two-thirds from the bottom with water (26 ± 1 °C) in such a way they were unable to rest by using their tails for support. Each rat was then dried before being placed in a cage (45 cm long×24 cm wide×20 cm high) under a lamp for a 15-min rest. Finally, rats were enclosed in a small chamber (19.5×14×11.5 cm), saturated in CO<sub>2</sub><sup>1</sup> induced by dry ice, until loss of consciousness (about 45–50 s). They were then quickly removed and carefully observed until complete recovery, before being returned to their home cage. All steps were done individually. Control rats were exposed to the same cues and apparatus as experimental rats: they were first placed in a cage next to the restraint tube during 2 h, then on a support (30 cm high, 26 cm diameter) placed in the swimming pool without water. After a 15-min rest in a cage under a lamp, they were enclosed in the CO<sub>2</sub> box without dry-ice.

**4.2.3. Re-exposures to trauma-associated cues.** During the two weeks following the SPS, rats were repeatedly exposed to different trauma-associated cues known as trauma reminders (Le Dorze and Gisquet-Verrier, 2016).

**4.2.3.1. Exposure to the predictive box.** Rats were transported to the SPS room and placed for 1 min in the safe lighted compartment of the inhibitory avoidance which was associated with the SPS.

**4.2.3.2. Exposure to the trauma-associated tone.** Rats were transported to a neutral room and placed for 1 min in a new box in which the trauma-associated tone was delivered throughout the one min.

<sup>1</sup> CO<sub>2</sub> was used instead of ether, prohibited by French authorities. As assessed by preliminary experiments, CO<sub>2</sub> exposure alone did not alter symptom tests.

**4.2.3.3. Exposure to the trauma-associated odor.** Rats were transported in a neutral room and placed for 1 min in a new cage with grids placed above a filter paper soaked with acetophenone, the trauma-associated odor.

**4.2.3.4. Exposure to the forced-swim tank.** Rats were transported to the SPS room and placed during 1 min on a 30 cm-high support filled with 2 cm of water ( $26 \pm 1$  °C) and placed in the SPS water tank.

Control rats received the same re-exposures treatments.

During re-exposures, rats' behavior was recorded and an experimenter blind to the conditions determined the level of freezing.

#### 4.2.4. Symptoms tests and reactivity to trauma-associated cues

**4.2.4.1. Anxiety: Elevated plus maze test.** The level of anxiety of each rat was determined with the elevated plus maze (EPM) test. The EPM was constructed of black PVC, was 60 cm above the floor and placed in a dimly lit room. Four arms (50 cm long and 11 cm wide, two open and two closed with 50 cm high walls) were arranged in a cross with two arms of the same type facing each other. At the start of the experiment the animal was placed in the center of the maze facing a closed arm and was free to explore the maze in a 5-min period. Eighty per-cent of the animal's full body entering an open (12 lx) or closed arm (2 lx) was considered an entry, while an exit was defined as an entry in another area. The relative percentage of time spent in the open arms, (time in the open arms/(time open arms+closed arms) $\times$ 100), was used as an index of anxiety (Qiu et al., 2015; Wu et al., 2016), with greater anxiety reflected in a lower index.

**4.2.4.2. Anxiety: Light dark exploration.** The device (100x100 cm) was equally divided into 2 compartments: one brightly lit (60 lx) and the other dark (6 lx). The rat was placed in the dark side and was free to explore the apparatus during a 5-min period. Rats were considered to have entered a compartment when its entire body was in the compartment. The time spent in the light compartment was used as an index of anxiety (the less time that rats spent in the lighted compartment, the more anxious they were considered to be, Solanki et al., 2015).

**4.2.4.3. Arousal: Acoustic Startle Response.** The acoustic startle response (ASR) was used to evaluate the level of arousal (Błaszczuk et al., 1999). Two startle chambers (Columbus instruments, Ohio, USA) were used. Each chamber (60x45x43 cm) included a ventilated, sound-attenuated lighted box providing a 68 dB background noise and contained a Plexiglas box (29x16.5x25 cm) equipped with a speaker and fitted with a piezoelectric accelerometer. In order to restrict movements during the test, rats were placed in a wire mesh cage (20x13x8 cm) enclosed in the Plexiglas box. The ASR session began with a 5-min period of acclimatization, followed by a series of five white noise sounds (1 dB; 20 ms; 20 s inter-sound-intervals) to define the baseline. Trials consisted of 30 consecutive presentations of 30 ms, 115 dB sounds (white noise), delivered over a 16-min period with a variable inter-sound intervals (mean=20 s). The startle response (in mV) was calculated by subtracting the baseline (in grams) from the peak amplitude. In our conditions, SPS always leads to a significant decrease of the startle response (for a discussion, see Toledano et al., 2013). Due to the fact that ASR took time to stabilize, the analyses were performed during the last three blocks of the results.

**4.2.4.4. CO<sub>2</sub> box.** Rats were placed for 90 s in the CO<sub>2</sub> box used for the SPS day (19.5x14x11.5 cm), placed in a dimly lit room (15 lx) and their freezing behavior was recorded.

**4.2.4.5. Trauma-associated cue tests.** Concerning the forced-swim

tank, the odor, and the tone have already been described above.

#### 4.3. Experimental procedures

Three different experiments were conducted in the present study.

**4.3.1. Experiment 1.** This experiment compared Control and SPS rats, re-exposed or not 4 times to the predictive box cue over a period of 2 weeks (Fig. 1A). Four different groups were also used: CTRL-NR, CTRL-4R, SPS-NR, and SPS-4R (ns=8).

**4.3.2. Experiment 2.** This experiment compared 3 SPS groups of rats, not re-exposed or re-exposed 4 (every 2/3 days) or 8 times (every 2 days) to the predictive box, over a period of 2 weeks (Fig. 2A). Three different groups were used: SPS-NR, SPS-4R and SPS-8R (ns=8).

**4.3.3. Experiment 3.** This experiment compared Control and SPS rats re-exposed or not 8 times to four different trauma-associated cues, over a 2 week period (Fig. 3A): the predictive box (day 2 and 14), the odor (day 3 and 9), the tone (day 7 and 13) and the forced-swim tank (day 6 and 10).

In this Experiment, traumatized rats were divided into Resilient and Vulnerable according to a previously developed method (Le Dorze and Gisquet-Verrier, 2016). Rats were identified on the basis of three behavioral tests: the Light-Dark, the Elevated Plus Maze (EPM) and the Acoustic Startle Response (ASR) tests. A rat was considered to demonstrate a PTSD-like symptom when its performance differed from the mean level of the performance obtained by the CTRL group (from one standard deviation for the Light-Dark test and 1/2 standard deviation for the EPM and ASR tests). Rats exhibiting 2 or 3 symptoms were considered as *Vulnerable (Vuln)*, while the remaining traumatized rats were considered as *Resilient (Res)*.

Six groups were also used: CTRL-NR (n=12), SPS-NR Res (n=6) and SPS-NR Vuln (n=6) which were not re-exposed, and CTRL-8R (n=12), SPS-8R Res (n=6) and SPS-8R Vuln (n=6) which were re-exposed to the trauma-associated cues.

#### 4.4. Statistical analyses

Statistical analyses were performed with standard ANOVAs, using VAR3 software (Rouanet et al., 1990), allowing subsequent planned comparisons, when significant main effects and interactions were obtained. For Experiment 1, two-way ANOVAs were used with trauma (CTRL/SPS) and re-exposures conditions (non re-exposed (NR)/re-exposed (4R)), as between-groups factors. For Experiment 2, differences among the three different groups were evaluated with one-way ANOVAs. For experiment 3, two-way ANOVAs were used with trauma (CTRL, Res, Vuln) and re-exposures (NR/8R) conditions as between-groups factors and three-way ANOVAs with block repetitions, as a within-group factor for reactivity to trauma-associated cues.

#### Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

#### Acknowledgments

Funding: CLD was supported by a DGA-MRIS (Direction Générale de l'Armement) scholarship. We are very grateful to Prof. DC. Riccio for the correction of the English text. We thank Aurelie Bonnilla, Céline Dubois and Fabien Lhériel for the animal care.

## References

- Adamec, R., Muir, C., Grimes, M., Pearcey, K., 2007. Involvement of noradrenergic and corticoid receptors in the consolidation of the lasting anxiogenic effects of predator stress. *Behav. Brain Res.* 179, 192–207. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2007.02.001>.
- Ardi, Z., Ritov, G., Lucas, M., Richter-Levin, G., 2014. The effects of a reminder of underwater trauma on behaviour and memory-related mechanisms in the rat dentate gyrus. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 17, 571–580. <http://dx.doi.org/10.1017/S1461145713001272>.
- Ardi, Z., Albrecht, A., Richter-Levin, A., Saha, R., Richter-Levin, G., 2016. Behavioral profiling as a translational approach in an animal model of posttraumatic stress disorder. *Neurobiol. Dis.* 88, 139–147. <http://dx.doi.org/10.1016/j.nbd.2016.01.012>.
- Blaszczak, J.W., Tajchert, K., Werka, T., 1999. Effect of nonaversive and aversive stimulations in infancy on the acoustic startle response in adult rats. *Acta Neurobiol. Exp. (Wars)* 59, 9–14.
- Chopin, M.-V., Peretti, C.-S., Gisquet-Verrier, P., Hoffmann, C., Belaïd, A., Chouinard, G., 2016. Cocaine use disorder treated with specific cognitive behavioral therapy and adjunctive propranolol. *Psychother. Psychosom.* 85, 61–63. <http://dx.doi.org/10.1159/000441036>.
- Cleren, C., Tallarida, I., Guiniec, E., Le, Janin, F., Nachon, O., Canini, F., Spennato, G., Moreau, J.-L., Garcia, R., 2013. Low-frequency stimulation of the ventral hippocampus facilitates extinction of contextual fear. *Neurobiol. Learn. Mem.* 101, 39–45. <http://dx.doi.org/10.1016/j.nlm.2012.12.017>.
- Conti, L.H., Printz, M.P., 2003. Rat strain-dependent effects of repeated stress on the acoustic startle response. *Behav. Brain Res.* 144, 11–18.
- Corral-Frias, N.S., Lahood, R.P., Edelman-Vogelsang, K.E., French, E.D., Fellous, J.-M., 2013. Involvement of the ventral tegmental area in a rodent model of post-traumatic stress disorder. *Neuropsychopharmacology* 38, 350–363. <http://dx.doi.org/10.1038/npp.2012.189>.
- Gisquet-Verrier, P., Riccio, D.C., 2012. Memory reactivation effects independent of reconsolidation. *Learn. Mem.* 19, 401–409. <http://dx.doi.org/10.1101/lm.026054.112>.
- Gonzales, M., Garrett, C., Chapman, C.D., Dess, N.K., 2008. Stress-induced attenuation of acoustic startle in low-saccharin-consuming rats. *Biol. Psychol.* 79, 193–199. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopsycho.2008.04.011>.
- Hawley, W.R., Grissom, E.M., Belkin, M.N., James, T.F., Dohanich, G.P., 2013. Decreased sexual motivation and heightened anxiety in male Long-Evans rats are correlated with the memory for a traumatic event. *Arch. Sex. Behav.* 42, 659–668. <http://dx.doi.org/10.1007/s10508-012-0017-5>.
- Hinton, D.E., Pich, V., Chhean, D., Pollack, M.H., Barlow, D.H., 2004. Olfactory-triggered panic attacks among Cambodian refugees attending a psychiatric clinic. *Gen. Hosp. Psychiatry* 26, 390–397. <http://dx.doi.org/10.1016/j.genhosppsych.2004.04.007>.
- Inda, M.C., Muravieva, E.V., Alberini, C.M., 2011. Memory retrieval and the passage of time: from reconsolidation and strengthening to extinction. *J. Neurosci.* 31, 1635–1643. <http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4736-10.2011>.
- Klorman, R., Cicchetti, D., Thatcher, J.E., Ison, J.R., 2003. Acoustic startle in maltreated children. *J. Abnorm. Child Psychol.* 31, 359–370.
- Korem, N., Akirav, I., 2014. Cannabinoids prevent the effects of a footshock followed by situational reminders on emotional processing. *Neuropsychopharmacology* 39, 2709–2722. <http://dx.doi.org/10.1038/npp.2014.132>.
- Korte, S.M., De Boer, S.F., Bohus, B., 1999. Fear-potentiation in the elevated plus-maze test depends on stressor controllability and fear conditioning. *Stress* 3, 27–40. <http://dx.doi.org/10.3109/10253899909001110>.
- Le Dorze, C., Gisquet-Verrier, P., 2016. Sensitivity to trauma-associated cues is restricted to vulnerable traumatized rats and reinstated after extinction by yohimbine. *Behav. Brain Res.* <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2016.07.006>.
- Liberzon, I., Krstov, M., Young, E. a., 1997. Stress-restress: effects on ACTH and fast feedback. *Psychoneuroendocrinology* 22, 443–453.
- Medina, a M., Mejia, V.Y., Schell, a M., Dawson, M.E., Margolin, G., 2001. Startle reactivity and PTSD symptoms in a community sample of women. *Psychiatry Res.* 101, 157–169.
- Olson, V.G., Rockett, H.R., Reh, R.K., Redila, V. a, Tran, P.M., Venkov, H. a, Defino, M.C., Hague, C., Peskind, E.R., Szot, P., Raskind, M. a, 2011. The role of norepinephrine in differential response to stress in an animal model of posttraumatic stress disorder. *Biol. Psychiatry* 70, 441–448. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopsycho.2010.11.029>.
- Ornitz, E.M., Pynoos, R.S., 1989. Startle modulation in children with posttraumatic stress disorder. *Am. J. Psychiatry* 146, 866–870. <http://dx.doi.org/10.1176/ajp.146.7.866>.
- Perrine, S.A., Eagle, A.L., George, S.A., Mulo, K., Kohler, R.J., Gerard, J., Harutyunyan, A., Hool, S.M., Susick, L.L., Schneider, B.L., Ghodoussi, F., Galloway, M.P., Liberzon, I., Conti, A.C., 2016. Severe, multimodal stress exposure induces PTSD-like characteristics in a mouse model of single prolonged stress. *Behav. Brain Res.* 303, 228–237. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2016.01.056>.
- Pitman, R.K., 1988. Post-traumatic stress disorder, conditioning, and network theory. *Psychiatr. Ann.* 18, 182–189. <http://dx.doi.org/10.3928/0048-5713-19880301-11>.
- Pitman, R.K., Delahanty, D.L., 2005. Conceptually driven pharmacologic approaches to acute trauma. *CNS Spectr.* 10, 99–106.
- Pynoos, R.S., Ritzmann, R.F., Steinberg, a M., Goenjian, a, Prisecaru, I., 1996. A behavioral animal model of posttraumatic stress disorder featuring repeated exposure to situational reminders. *Biol. Psychiatry* 39, 129–134. [http://dx.doi.org/10.1016/0006-3223\(95\)00088-7](http://dx.doi.org/10.1016/0006-3223(95)00088-7).
- Qiu, Z.-K., Zhang, G.-H., He, J.-L., Ma, J.-C., Zeng, J., Shen, D., Shen, Y.-G., Chen, J.-S., Liu, C.-Y., 2015. Free and Easy Wanderer Plus (FEWP) improves behavioral deficits in an animal model of post-traumatic stress disorder by stimulating allopregnanolone biosynthesis. *Neurosci. Lett.* 602, 162–166. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neulet.2015.06.055>.
- Ritov, G., Ardi, Z., Richter-Levin, G., 2014. Differential activation of amygdala, dorsal and ventral hippocampus following an exposure to a reminder of underwater trauma. *Front. Behav. Neurosci.* 8, 18. <http://dx.doi.org/10.3389/fnbeh.2014.00018>.
- Rouanet, H., Bernard, J.M., Leroux, B., 1990. Statistiques en sciences humaines: Analyse inductive des donnees. Dunod. ed., Paris.
- Ryoko, R., Yamada, K., Ichitani, Y., 2014. Long-term effects of traumatic stress on subsequent contextual fear conditioning in rats. *Physiol. Behav.* 129, 30–35. <http://dx.doi.org/10.1016/j.physbeh.2014.02.042>.
- Solanki, N., Alkadhi, I., Atrooz, F., Patki, G., Salim, S., 2015. Grape powder prevents cognitive, behavioral, and biochemical impairments in a rat model of posttraumatic stress disorder. *Nutr. Res.* 35, 65–75. <http://dx.doi.org/10.1016/j.nutres.2014.11.008>.
- Toledano, D., Gisquet-Verrier, P., 2014. Only susceptible rats exposed to a model of PTSD exhibit reactivity to trauma-related cues and other symptoms: an effect abolished by a single amphetamine injection. *Behav. Brain Res.* 272, 165–174. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2014.06.039>.
- Toledano, D., Gisquet-Verrier, P., 2016. Repeated amphetamine injections alter behavior and induce a delayed behavioral sensitization modulated by reactivity to novelty: similarities and differences with trauma consequences. *Eur. Neuropsychopharmacol.* <http://dx.doi.org/10.1016/j.euroneuro.2015.12.042>.
- Toledano, D., Tassin, J.-P., Gisquet-Verrier, P., 2013. Traumatic stress in rats induces noradrenergic-dependent long-term behavioral sensitization: role of individual differences and similarities with dependence on drugs of abuse. *Psychopharmacology* 230, 465–476. <http://dx.doi.org/10.1007/s00213-013-3179-5>.
- Vermetten, E., Schmahl, C., Southwick, S.M., Bremner, J.D., 2007. Positron tomographic emission study of olfactory induced emotional recall in veterans with and without combat-related posttraumatic stress disorder. *Psychopharmacol. Bull.* 40, 8–30.
- Wu, Z.-M., Zheng, C.-H., Zhu, Z.-H., Wu, F.-T., Ni, G.-L., Liang, Y., 2016. SiRNA-mediated serotonin transporter knockdown in the dorsal raphe nucleus rescues single prolonged stress-induced hippocampal autophagy in rats. *J. Neurol. Sci.* 360, 133–140. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jns.2015.11.056>.

## II – Découplage monoaminergique

### 1. Recherche de bases physiologiques commune entre TSPT et dépendance

#### ***Publication n°3***

---

### **Sensibilisation comportementale et noradrénergique chez des rats modèles du TSPT : support pour des bases physiologiques communes avec la dépendance.**

---

*Claire Le Dorze, Jean-Pol Tassin, Frédéric Chauveau, Pascale Gisquet-Verrier*

#### 1.1. But article

Les points communs entre TSPT et addiction nous ont conduits à envisager ces deux pathologies comme des pathologies de la réactivation mnésique, pouvant être sous-tendus par un mécanisme commun : le découplage monoaminergique. Mis en évidence pour la dépendance aux drogues d'abus, il permet d'expliquer l'hyperréactivité aux indices environnementaux qui caractérise ces deux pathologies. Le but de cet article est donc de chercher si un découplage monoaminergique peut être retrouvé dans un modèle animal de TSPT.

#### 1.2. Que fait l'article

Dans l'addiction, le découplage monoaminergique a été mis en évidence par des sensibilisations comportementales en réponses à des injections de psychostimulants, conséquences de sensibilisations neurochimiques en amont. Cet article vise à mettre en évidence ces différents types de sensibilisations en réponse à une injection de psychostimulant (amphétamine, 1mg/kg). Elles sont étudiées sur des rats traumatisés, en prenant en compte la variabilité individuelle responsable de la vulnérabilité au traumatisme. Dans une seconde partie, la possibilité d'obtenir une sensibilisation comportementale en



réponse à l'exposition à un indice de rappel est aussi étudiée. Trois expériences ont donc été menées, les deux premières s'intéressant aux sensibilisations comportementales, soit à l'amphétamine, soit aux indices, et la troisième expérience s'intéressant à la sensibilisation noradrénergique.

### 1.3. Méthodes

Les rats, préalablement classifiés sur la réactivité à la nouveauté et l'anxiété, sont soumis au SPS, puis après la période d'incubation de 15 jours, différents tests sont effectués. Les tests d'anxiété et de vigilance permettent de sélectionner les animaux en résilients ou vulnérables au traumatisme. La sensibilisation comportementale est étudiée lorsque les animaux sont placés dans un couloir circulaire permettant de mesurer leur locomotion. La sensibilisation neurochimique est déterminée par la technique de microdialyse permettant de recueillir les monoamines libérées dans le cerveau d'animaux vigiles (voir annexe 2). Les animaux sont d'abord équipés d'une canule permettant de cibler la structure d'intérêt, ici, le cortex préfrontal médian. La sonde permettant de récupérer les neurotransmetteurs dans les dialysats est insérée le jour de la microdialyse. Dans chacune des expériences, l'injection d'amphétamine ou l'exposition à un indice de rappel du traumatisme est précédée d'une période permettant de déterminer les taux de base.

### 1.4. Principaux résultats

Les animaux SPS classés comme vulnérables montrent de symptômes d'anxiété et de vigilance. Contrairement à ce qui était attendu, les animaux vulnérables développent une désensibilisation comportementale en réponse à l'injection d'amphétamine, et non une sensibilisation, alors que les animaux résilients se comportent comme les animaux contrôles. Par contre, lorsque l'activation du système noradrénergique est induite par l'exposition à l'indice prédictif du SPS, les animaux vulnérables expriment une sensibilisation comportementale, développant transitoirement une activité locomotrice supérieure à celle des deux autres groupes de rats. De plus, les réponses locomotrices des rats vulnérables sont corrélés avec les réponses de peur enregistrée lors de la présentation de l'indice prédictif.

Les données obtenues avec la microdialyse montrent que le SPS induit une sensibilisation noradrénergique au niveau du cortex préfrontal chez les rats SPS vulnérables conformément à nos hypothèses.

## 1.5. Conclusion

Ces résultats valident la présence d'une sensibilisation noradrénergique dans le cortex préfrontal médian après SPS, reproduisant celle obtenue chez la souris après des injections répétées de drogues. Nous avons proposé que la désensibilisation comportementale obtenue chez les rats vulnérables résulte bien d'une sensibilisation des neurones noradrénergiques corticaux, en faisant l'hypothèse de désensibilisations de récepteurs noradrénergiques, conduisant à des diminutions de locomotion après des libérations massives de noradrénaline. Cette interprétation permet aussi d'expliquer pourquoi, lorsque la stimulation du système noradrénergique est moins importante, comme lors de l'exposition à un indice associé au SPS, une sensibilisation comportementale est obtenue. Dans les trois études réalisées, les sensibilisations/désensibilisation ne sont présentes que pour les animaux vulnérables au traumatisme ayant des symptômes de type TSPT, indiquant un lien entre ce phénomène et le développement de la pathologie du trouble de stress post traumatique. Ces résultats constituent un apport déterminant à nos hypothèses de bases physiologiques communes entre TSPT et addiction.



**Behavioral and Noradrenergic  
sensitizations to amphetamine in rats exposed to an Animal  
Model of Post-Traumatic Stress Disorder: a support for  
common bases with dependence to drugs of abuse**

**Authors:** Claire Le Dorze<sup>1</sup>, Jean-Pol Tassin<sup>2</sup>, Frédéric Chauveau<sup>3</sup> and Pascale Gisquet-Verrier<sup>1</sup>

**Affiliations:**

<sup>1</sup> Institut des Neurosciences Paris-Saclay (Neuro-PSI), Université Paris-Sud, CNRS UMR 9197, Université Paris-Saclay, 91405 Orsay, France.

<sup>2</sup> Inserm UMR S952, Université Pierre et Marie Curie, 7-9 quai Saint Bernard, 75252 Paris, France.

<sup>3</sup> Institut de Recherche Biomédicale des Armées (IRBA), Brétigny sur Orge Cedex, France.

**Corresponding author:** Pascale Gisquet-Verrier, NeuroPsi, UMR 9197, Bât 446, Université Paris-Sud, F-91405 Orsay, France.

[pascale.gisquet@u-psud.fr](mailto:pascale.gisquet@u-psud.fr)

## ABSTRACT

The aim of the present study is to strengthen our hypothesis of common physiological basis for PTSD and drug addiction. Since repeated drug taking has been shown to induce both a behavioral and a neurochemical sensitization in response to a psychostimulant injection (Tassin, 2008), the aim of the present paper was to investigate the possibility to obtain similar results in rats exposed to a PTSD model. Rats received a Single Prolonged Stress (SPS), combining three consecutive stresses. PTSD-like symptoms were tested two weeks later in order to identify trauma resilient and vulnerable rats, on the basis of three behavioral tests. Twenty days after the trauma, rats were exposed to a sensitization test. When compared to controls, trauma vulnerable rats exhibited a behavioural desensitization (decreased locomotor activity), in response to an amphetamine injection (1mg/kg; Experiment 1) and a behavioural sensitization after an exposure to trauma-associated cues (Experiment 2). We provided evidence suggesting that the behavioural desensitization might in fact be a consequence of a strong sensitization. In vivo microdialysis revealed increases of noradrenaline release within the medial prefrontal cortex of vulnerable rats, in response to amphetamine. These data demonstrate that, as repeated exposures to drug of abuse, exposure to a trauma may induce both a noradrenergic sensitization and a behavioural sensitization, in response to an amphetamine injection, in a part of the exposed animals. These results support our hypothesis that a common physiological basis, the uncoupling of monoaminergic systems, may be involved both in PTSD and drug addiction and suggest new therapeutic approaches for these pathologies.

## INTRODUCTION

Post-traumatic stress disorder (PTSD) and dependence to drug of abuse are two pathologies due to exposure to extreme outcomes (negative for PTSD, and positive for addiction) which have a high rate of comorbidity (around 40%). They have extensive common ground (Gisquet-Verrier et al., 2016) and in particular the high sensitivity to environmental cues leading to re-experiencing or craving. Both of them are known to be responsible for the high rates of relapse which characterize these pathologies, as well as responsible for the development of others symptoms, like hyper-arousal, sleep disorders, aggressivity and avoidance of associated stimuli. We proposed that this hyper reactivity to reminder cues results from memory reactivation disorders induced by the exposure to outstanding events and sustained by common physiological processes (Toledano et al., 2013; Toledano and Gisquet-Verrier, 2014). Using an animal model of addiction, one of us showed that repeated exposures to psychostimulants (amphetamine, cocaine, MDMA, alcohol, morphine) in mice induced a behavioural and neurochemical sensitization (Tassin, 2008). To account for these results, it has been proposed that the control normally exerted by serotonergic and noradrenergic systems on themselves was disrupted after repeated drug injections, leading to an uncoupling of monoaminergic systems. This uncoupling is thought to be responsible for the large increases of noradrenaline (NA) and serotonin (5-HT) releases within in the medial prefrontal cortex (PFC), in response to the stimulation of these system by a psychostimulant (Lanteri et al., 2008, 2014). Through projections to VTA and NAc, this neurochemical sensitization has been proposed to be responsible for the locomotor sensitization observed in mice treated with repeated injection of psychostimulants. Supporting this view, it has been shown that delivering the noradrenergic alpha2-agonist, clonidine, during the repeated drug injections prevented both the behavioural and the neurochemical sensitization (Doucet et al., 2013).

To test our hypothesis of common physiological processes for drug addiction and PTSD, we first investigated whether a behavioural sensitization could be obtained in rats exposed to an animal model of PTSD, the Single Prolonged Stress (SPS; Liberzon et al., 1997), combining 2-hrs restraint stress, followed by a 20-min forced-swim and a loss of consciousness produced by CO<sub>2</sub>. In this study (Toledano et al.,

2013), rats were characterized for their anxiety level and for their reactivity to novelty, two behavioral traits known to be involved in PTSD and in drug addiction, respectively. The results showed a behavioral sensitization in rats classified as low responder to novelty (LR), and a behavioral desensitization in high responders (HR) rats. However, we were unable to find any relationship between the alterations of the behavioral sensitization and the development of PTSD-like symptoms in traumatized rats (Toledano et al., 2013). This result indicated that despite the fact that reactivity to novelty is modified in traumatized and addicted rats (Toledano and Gisquet-Verrier, 2014), this behavioral trait is not directly involved in the vulnerability to trauma and drug. We recently developed a procedure, based on three different behavioral tests, able to differentiate trauma resilient and vulnerable rats (Le Dorze and Gisquet-Verrier, 2016). Our results indicated that vulnerable rats were the only one to show PTSD symptoms and to react to trauma-associated cues. The aim of the present experiment was thus to investigate whether, according to our hypothesis, a neurochemical and a behavioral sensitization restricted to these vulnerable rats can be demonstrated after a trauma.

For that aim, rats behaviorally characterized before the trauma were exposed to the single prolonged stress and classified as vulnerable or resilient. Experiment 1 investigated whether a behavioral sensitization to amphetamine, a noradrenergic booster, can be evidenced in traumatized rats placed in a locomotor activity test, when the activation of the noradrenergic system was promoted by an amphetamine injection. Experiment 2 examined the same possibility, when the activation of the noradrenergic system was induced by the exposure to trauma-related cue. Finally, Experiment 3 was planned to demonstrate a neurochemical sensitization in response to an amphetamine injection, using *in vivo* microdialysis within the prelimbic area.

## **MATERIAL AND METHODS**

### **1. Animals**

The subjects were 81 male Sprague Dawley rats weighing 250–275 g upon arrival, from Harlan Laboratories, France. Rats were housed in pairs under a 12 h light/dark cycle (lights on at 07:30), with food and water available ad libitum. They were habituated to the colony room at least 14 days prior to the start of the experiment, then handled, numbered and weighed. All efforts were made to minimize the number of animals used and their discomfort. All experiments were approved by the ethic committee CEE59 (Project number 2015-07) and in accordance with the European Communities Council Directive [2010/63/EU, 22 September 2010].

### **2. Single Prolonged Stress (SPS)**

Rats were first individually restrained for 2 hrs in a transparent conical Plexiglas restriction container (21 × 7.5 cm). Immediately thereafter, rats were placed for 20 min in a water tank (57.5 cm of depth; 26.5 cm of diameter) filled two-thirds from the bottom with water (26±1 °C) in such a way they were unable to rest by using their tails for support. Each rat was then dried before being placed in a cage (45 cm long x 24 cm wide x 20 cm high) under a lamp for a 15-min rest. Finally, rats were enclosed in a small chamber (19.5 × 14 × 11.5 cm), saturated in CO<sub>2</sub> induced by dry ice, until loss of consciousness (about 45–50 s). They were then quickly removed and carefully observed until complete recovery, before being returned to their home cage. Control rats (CTRL) were first placed in a cage (35 x 21 x 18 cm) next to the contention tube during the first 2 hours, then on a support (30 cm high) placed in a swimming pool without water. After a 15-min rest in a cage under a lamp, they were put in the CO<sub>2</sub> box without dry-ice.

### **3. Inhibitory avoidance task (Exp 2 only)**

The inhibitory avoidance was used only in Experiment 2 in order provide a context predicting the occurrence of the trauma (predictive cue). The inhibitory avoidance took place in a plexiglas chamber (49 x 22 x 21 cm) separated by a sliding door dividing it into two equal size compartments: one black and one white. The floor in the black compartment consisted of metal grids spaced 1.2 cm apart, and the grids were connected to a shock source. A 40 W bulb was suspended above the center of the white compartment.



Each rat was placed in the white compartment for 1.5 min, then the light was turned on and the sliding door separating the two compartments was opened. Once the rat entered the black compartment, the sliding door was closed and two footshock (0,5 s; 0.5 mA), separated from 5 sec, were delivered. Immediately thereafter, rats were exposed to the Single Prolonged Stress. The control rats were placed in the same conditions but did not receive any shock. Exposure to the safe white compartment has been shown to be an effective reminder predicting the trauma, without being a part of it (Le Dorze and Gisquet-Verrier, 2016).

#### **4. Behavioral protocols**

- Video tracking system

A flexible video tracking system (ANY-maze™, Stoelting Co, Wood Dale, USA) was used for automated scoring in the different behavioral tests. A video camera was placed above or next to the apparatus and the information was relayed to a monitor in an adjoining room to score the behavior in real time. The software analyzed time and distance spent in each area of the elevated plus maze, open field and light-dark box.

Freezing was defined as the absence of all movement, except for respiration. The measure of freezing during trauma-associated cues exposures was made manually, with the help of an ethologic key board on ANY-maze. All behavioral tests were done with an experimenter blind to the group conditions. To ensure the reliability of freezing measurement, experimenters were first trained with previous any-maze until their analyses match with the former ones. In addition, the main experimenter regularly checked the measurement through random rereading of experimental videotapes.

- Circular corridor locomotor activity test: reactivity to a novel environment

Eight circular corridors (Imetronic, Pessac, France) were constructed of black Plexiglas sidewalls and stainless steel running platforms. The outside radius of the inner wall was 32 cm while the inside radius of the outer wall was 60 cm, producing a running corridor of 14 cm (light level around 25 lux inside). Four infrared beams were placed 5 cm above the floor, every 90°. The locomotor activity was counted when animals interrupted two successive beams and thus had travelled a quarter of the circular corridor. The number of quarter turns, recorded via a computer fitted with

appropriate software, was determined during a one hour period and used as an index of locomotor activity.

- Anxiety: Elevated plus maze test

The level of anxiety of each rat was determined with the elevated plus maze (EPM) test. The EPM was constructed of black PVC, was 60 cm above the floor and placed in a dimly lit room. Four arms (50 cm long and 11 cm wide, two open and two closed with 50 cm high walls) were arranged in a cross with two arms of the same type facing each other. At the start of the experiment the animal was placed in the center of the maze facing a closed arm and was free to explore the maze in a 5-min period. Eighty per-cent of the animal's full body entering an open (12 lux) or closed arm (2 lux) was considered an entry, while an exit was defined as an entry in another area. The relative percentage of time spent in the open arms,  $(\text{time in the open arms} / (\text{time open arms} + \text{closed arms}) \times 100)$ , was used as an index of anxiety.

- Anxiety: Light Dark exploration

The device (100 cm x 100 cm) was equally divided into 2 compartments: one brightly lit (60 lux) and the other dark (6 lux). The rat was placed in the dark side and was free to explore the apparatus during a 5-min period. Rats were considered to have entered a compartment when its entire body was in the compartment. The time spent in the light compartment was used as an index of anxiety (the less rats spent time in the lighted compartment, the more anxious they were, Solanki et al., 2015).

- Arousal: Acoustic startle response

The acoustic startle response (ASR) was used to evaluate the level of arousal (Błaszczuk et al., 1999). Two startle chambers (Columbus instruments, Ohio, USA) were used. Each chamber (60 x 45 x 43 cm) included a ventilated, sound-attenuated lighted box providing a 68 dB background noise and contained a Plexiglas box (29 x 16.5 x 25 cm) equipped with a speaker and fitted with a piezoelectric accelerometer. In order to restrict movements during the test, rats were placed in a wire mesh cage (20 x 13 x 8 cm) enclosed in the Plexiglas box. The ASR session began with a 5-min period of acclimatization, followed by a series of five white noise sounds (1 dB; 20 ms; 20 s inter-sound-intervals) to define the baseline. Trials consisted of 30 consecutive presentations of 30 ms, 115 dB sounds (white noise), delivered over a 16-min period with a variable inter-sound intervals (mean=20 s). The startle response

(in mV) was calculated by subtracting the baseline (in grams) from the peak amplitude. As in our previous studies, statistical analyses were performed on the last three blocks of 6 tones. In our conditions, SPS always leads to a significant decrease of the startle response (for a discussion, see Toledano et al., 2013).

## 5. Behavioral characterization

- Before the trauma : for CTRL vs SPS group determination

At the beginning of each experiment, rats performed an EPM (D-7) and a reactivity to novelty tests (D-6; see Fig.1,3,5). Each rat was then classified as “anxious” or “non anxious” depending on whether they were above or below the median anxiety score obtained in the EPM. Rats were then placed in the circular corridors and their locomotor activity was registered for one hour. They were classified as “Low Responder” or “High Responder” depending on whether they were below or above the median locomotor activity score obtained in the reactivity to novelty test. Based on their level of anxiety and of their reactivity to novelty, rats were then divided into two groups matched. One group was exposed to the SPS procedure (SPS group), while the other group served as control group (CTRL group).

- After the trauma: for Resilient vs Vulnerable determination

In Experiment 1 and 2, traumatized rats were separated into Resilient and Vulnerable on the basis of three main symptom tests: the Light-Dark and the Elevated Plus Maze exploring anxiety, and the Acoustic Startle Response, testing arousal. According to a previous study (Le Dorze and Gisquet-Verrier, 2016), a rat was considered to demonstrate a PTSD-like symptom when its performance differed by one standard deviation (SD) from the mean level of the performance obtained by the CTRL group for the Light-Dark test and  $\frac{1}{2}$  SD for EPM and ASR tests (SD magnitude was determined on the basis of the performance distribution). Rats exhibiting two or three symptoms were considered as Vulnerable (SPS-V), while the remaining rats were considered as Resilient (SPS-R). Results obtained for the other symptom tests, as well as for the cue reactivity tests, were then analyzed considering three different groups of rats: CTRL, SPS-R and SPS-V rats.

In experiment 2, in order to reduce the number of behavioral tests delivered before the microdialysis, resilient and vulnerable rats were identified only on the basis of the

EPM test. Rats exhibiting this symptom were considered as Vulnerable, while the remaining rats were considered as Resilient.

- Resilient and Vulnerable rats profile

To determine the behavioral profile of Resilient and Vulnerable rats, backward analyses were performed at the end of behavioral tests for Experiment 1 to determine, in Resilient and Vulnerable rats, the percentage of Anxious and Non Anxious rats before the trauma, as well as the percentage of HR and LR rats.

## **6. Experimental Procedures**

### ***6.1. Amphetamine test (Exp1 – D20)***

The behavioral sensitization was determined during an “amphetamine test” already described in previous studies (Toledano et al., 2013; Toledano and Gisquet-Verrier, 2016). Shortly, rats were placed in the circular corridor during three consecutive hours and their levels of activity were recorded every 10 min. During the first hour, the spontaneous locomotor activity was recorded (habituation phase). Rats then received a saline injection, before being recorded during a second hour (basal phase). Finally, rats received a d-amphetamine injection (1 mg/kg, i.p.) before being recorded for a third hour (amphetamine phase). For better clarity, the figures show only the basal and amphetamine phases.

### ***6.2. Cue-test (Exp2 – D15)***

For the behavioral sensitization induced by the predictive cue, the locomotor activity was recorded for 40 min (basal phase). Then each rat was transported to the SPS room and placed for a 1 min-period in the safe compartment of the inhibitory avoidance which was timely associated with the SPS. Rats then returned to the corridor for 20 min.

### ***6.3. In vivo microdialysis (Exp3)***

- Surgery

One week after the SPS, rats were anesthetized with a ketamine (75 mg/kg) / xylazine (10 mg/kg) anesthesia (intraperitoneal injection with 0.2 ml/100g body weight) and placed in a stereotaxic frame (Stoelting Instruments). An unilateral permanent cannula (CMA/11, CMA Microdialysis) was placed at the edge of the prelimbic part of the prefrontal cortex and secured on the skull with screws and dental

cement. The coordinates for the guide cannula tip were as follows: anteroposterior, +2.6 relative to bregma; mediolateral, +0.5; and dorsoventral, 0 mm from dura according to the atlas of Paxinos and Franklin Watson (1986). After surgery, rats were allowed to recover for at least 7 days.

- Monitoring of cortical extracellular noradrenaline levels

The microdialysis was assessed on vigil and freely moving animals. The day of the experiment, the microdialysis probe was inserted into the PFC (membrane length, 2 mm; diameter, 0.24 mm; cutoff, 6000 Da; CMA/11, CMA Microdialysis). Artificial CSF (in mM: 147 NaCl, 3.5 KCl, 1 CaCl<sub>2</sub>, 1.2 MgCl<sub>2</sub>, 1 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 25 NaHCO<sub>3</sub>, pH 7.6) was perfused through the probe at a rate of 1 µl/min by a CMA/100 microinjection pump with a catheter FEP (fluorinated ethylene propylene, intern diameter 0.12 mm). Adequate steady state monoamines levels in perfusate samples were reached 140 min after probe insertion and samples (20µl) were collected in 300µl vials containing 10µl of mobile phase (0.1 M NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.1 mM EDTA, 2.75 mM octane sulfonic acid, 0.25 mM triethylamine, 3% methanol, pH=2.9), every 20 min in a refrigerated collector (CMA/170; 6°C) . A period of 100 min will allow determining basal extracellular values. Then, amphetamine (1mg/kg, i.p.) was injected and samples were collected for 220 min. All samples were then kept at -80°C until biochemistry analyses.

- Biochemistry

Dialysate samples (20 µl) were injected every 30 min through a rheodyne valve in the mobile phase circuit with a refrigerated automatic injector (Triathlon; Spark Holland). High-performance liquid chromatography (HPLC) was performed with a reverse-phase column (80 × 4.6 mm; 3 µm particle size; HR-80; ESA). The mobile phase was delivered at 0.6 ml/min by an ESA-580 pump. An ESA coulometric detector (Coulochem II 5100A, with a 5014B analytical cell; Eurosep) was used for electrochemical detection. The conditioning electrode was set at -0.175 mV and the detecting electrode was set at +0.175 mV. Data from microdialysis were expressed as a percentage of the respective mean basal value.

- Histology

At the end of the experiment, rats were euthanized using a lethal pentobarbital injection and their brains were fixed (PFA 4%). Microtome coronal slices (frozen

using dry ice; 50  $\mu$ m) were performed in order to determine the location of the microdialysis probes.

## **7. The experiments**

Three different experiments were conducted in the present study.

### **7.1. Experiment 1 (N=32)**

The purpose of this experiment was to determine whether a trauma is able to induce a behavioral sensitization to amphetamine. After the SPS, rats had several behavioral tests taking place between D15 and D18. Traumatized rats were then identified as resilient or vulnerable, and the three groups of rats (Control (n=10), SPS-R (n=11) and SPS-V (n=11)) underwent an amphetamine test that took place at D20 (Fig.1A).

### **7.2. Experiment 2 (N=21)**

This experiment explored whether a behavioral sensitization can be evidence when the noradrenergic system is activated by an exposure to a trauma-associated cue. In this experiment, the behavioral tests took place between D20 and D28 and the cue test (exposure to the predictive cue) was performed at D15. Three groups of rats were considered: CTRL (n=10), SPS-R (n=5) and SPS-V (n=6). (Fig.5A).

### **7.3. Experiment 3 (N=28)**

The last experiment investigated the possibility to evidence a neurochemical sensitization after a trauma. For that aim, rats exposed to the SPS received a surgery one week later in order to equip them with a cannula with the prelimbic cortex. They performed an EPM test 15 days after the trauma in order to determine whether they were resilient or vulnerable. The three groups of rats (CTRL (n=14), SPS-R (n=7), SPS-V (n=7) were then tested with microdialysis at D20. Two supplementary EPM tests were delivered at D30 and D40 (Fig.8A).

## **8. Statistical analyses**

Statistical analyses were performed with standard analyses of variance (ANOVAs), using VAR3 software, allowing planned comparisons (Rouanet et al., 1990). All parameters were analyzed. ANOVA for repeated measures were done for microdialysis data and for locomotor activity experiments. Comparisons between the extracellular monoamines levels and the locomotor activity obtained after the *d*-amphetamine were performed with two-way ANOVA (repeated measures). Significant differences were set at  $p < 0.05$ .

## RESULTS

The aim of this study was to investigate whether rats exposed to an animal model of PTSD demonstrate (1) a behavioral sensitization when the monoaminergic systems were activated either by amphetamine (Exp1), or by an exposure to a trauma-associated cue (Exp2) and (2) a neurochemical sensitization (Exp3). In both experiments, rats were first characterized for their level of anxiety and for their reactivity to novelty, since these two behavioral traits are well known to play a particular role in PTSD (Le Dorze and Gisquet-Verrier, 2016) and drug addiction (Piazza et al., 1989), respectively. After the trauma procedure, rats performed behavioral tests allowing to determine whether SPS rats were resilient or vulnerable.

### **1. Experiment 1: Behavioral sensitization to amphetamine**

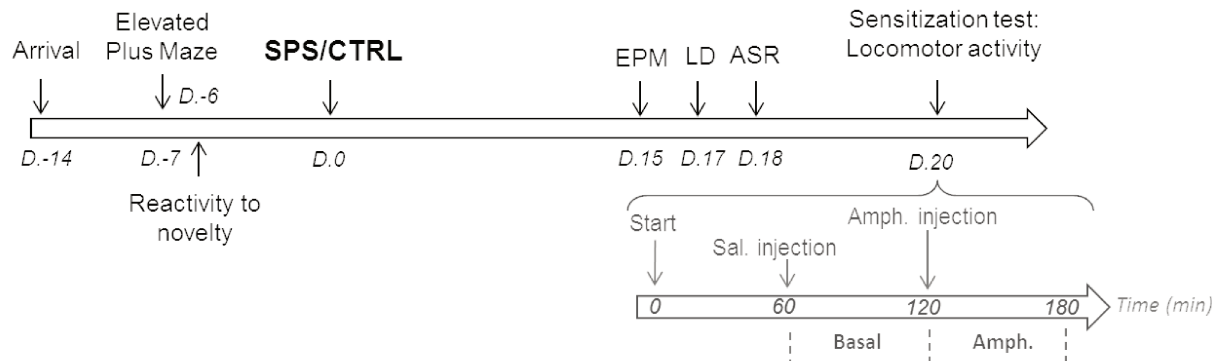
#### **1.1. PTSD-like symptoms (Fig.1).**

According to a procedure developed in the lab (Le Dorze and Gisquet-Verrier, 2016), three PTSD-like symptoms tests were used to characterize SPS rats in vulnerable and resilient. With this procedure, 11 over the 22 traumatized rats (50%) exhibited 2 or 3 symptom criteria among these three tests, and were thus classified as vulnerable, while the remaining were considered as resilient. Three different groups were then considered in Experiment 1: a control group (CTRL; n=10), a traumatized resilient group (SPS-R; n=11) and a traumatized vulnerable group (SPS-V; n=11).

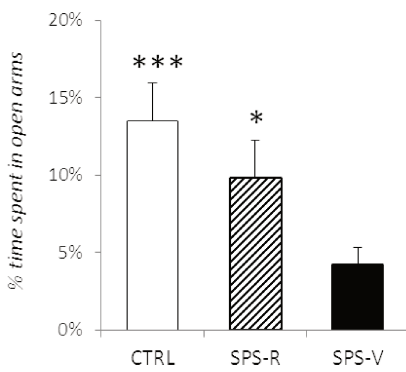
A one-way ANOVA performed on the percentage of time spent in open arms in the Elevated Plus Maze test (D15), revealed a Group effect ( $F(2-29)=5.77$ ,  $p=0.007$ ) with SPS-V rats spending less time in open arms than CTRL ( $F(1-19)=17.49$ ,  $p<.001$ ) and SPS-R rats ( $F(1-20)=4.28$ ,  $p=0.049$ ). For the Light-Dark test performed on the following day, ANOVA revealed a Group effect ( $F(2-29)=10.08$ ,  $p<.001$ ), indicating that SPS-V rats spend less time in the lighted compartment compared to CTRL ( $F(1-19)=29.33$ ,  $p<.001$ ) and SPS-R ( $F(1-20)=11.47$ ,  $p=0.003$ ), highlighting their anxiety. Finally, for the acoustic startle response test, analyses performed on the three last blocks of amplitude revealed a Group effect ( $F(2-29)=4.38$ ,  $p=0.02$ , D17), with SPS-V rats being statistically different from the other two groups ( $F(1-19)=4.78$ ,  $p=0.04$  for

CTRL,  $F(1-20)=7.72$ ,  $p=0.011$  for SPS-R). In each test presented here, CTRL and SPS-R behaved similarly ( $F_s < 1$ ).

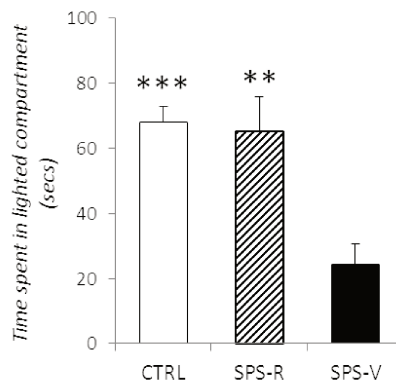
### A) General protocol of Experiment 1



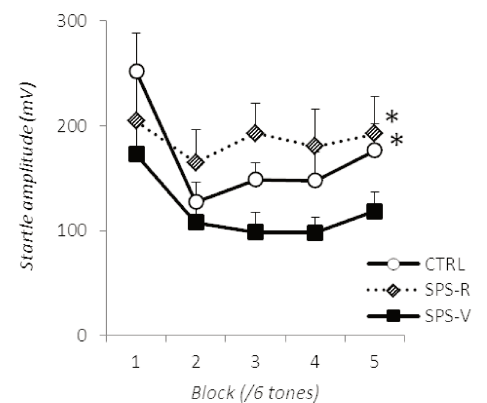
### B) Elevated Plus Maze



### C) Light Dark



### D) Acoustic Startle Response



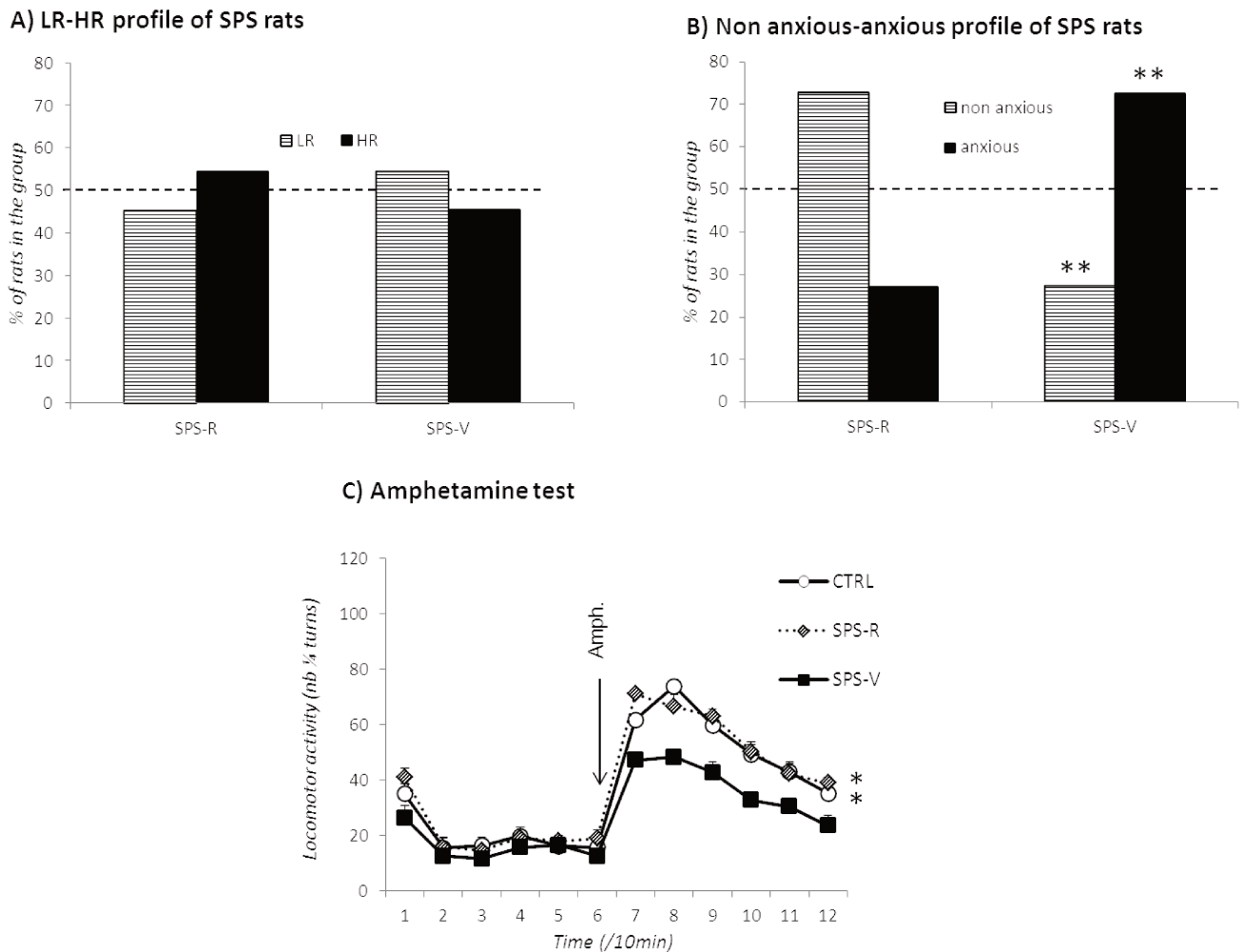
### Figure 1: Experiment 1

**A) Timeline of general protocol:** Rats were behaviorally characterized one week before the trauma with an elevated plus maze test and with a reactivity to novelty test. The trauma procedure was performed two weeks after the arrival of animals, at D0. The behavioral tests were performed between D15 and 18 and the amphetamine test took place at D20. Three behavioral tests were used to identify vulnerable and resilient rats. **B) Elevated Plus Maze test (D15):** percentage of time spent in open arms during a 5-min period. **C) Light-dark test (D16):** mean of time spent in the lighted compartment (in secs) during a 5-min period. **D) Acoustic startle response (D17) test:** mean of startle amplitude (mV) during a 16-min period. Data are expressed as mean  $\pm$  standard error of the mean (SEM).  $^* .05 > p > .01$ ;  $^{**} .01 > p > .001$ ;  $^{***} p < .001$ .

Our procedure is efficient to determine vulnerable traumatized rats exhibiting significantly more anxiety and more alteration of arousal than both control and resilient traumatized rats.



## 1.2. Profile of vulnerable rats (Fig.2A-B)



**Figure 2: Experiment 1**

**A) Profile of resilient and vulnerable rats based on LR/HR trait:** percent of vulnerable and resilient rats in rats determined as HR and LR on the basis of the reactivity to novelty test performed at D-7. **B) Profile of resilient and vulnerable rats based on anxiety:** percent of vulnerable and resilient rats in rats determined as anxious or non anxious on the basis of the EPM test performed at D-6. **C) Determination of a behavioral sensitization during an amphetamine test:** Locomotor activity (number of ¼ turns) in function to the time (/10 min) expressed for CTRL and traumatized rats separated on resilient and vulnerable. Data are expressed as mean  $\pm$  standard error of the mean (SEM). \*.05>p>.01; \*\*.01>p>.001; \*\*\*p<.001.

The analysis of the pre-trauma behavioral traits exhibited by the vulnerable rats demonstrated that 55% of the SPS vulnerable rats were qualified as LR and 45% as HR, suggesting that this behavioral trait is not involved in the susceptibility to the

trauma. On the other hand, 73% of SPS vulnerable rats were part of the rats determined as anxious before the trauma, a percentage significantly higher than the one exhibited by the resilient rats (27%;  $X^2=42.32$ ,  $p<.01$ ), suggesting that the basal level of anxiety play a major role in the susceptibility to the trauma.

*The present results confirm our previous results in showing that anxiety, but not reactivity to novelty, is implicated in the trauma vulnerability (Le Dorze and Gisquet-Verrier, 2016).*

### **1.3. Amphetamine test (Fig.2C)**

The amphetamine test took place on D20. An ANOVA performed on the number of ¼ turns obtained during the basal phase, indicated no Group effect ( $F(2-29)=1.44$ ,  $p=0.25$ ), a significant effect of Time ( $F(5-145)=24.13$ ,  $p<.001$ ), with no interaction ( $F<1$ ). However, after the amphetamine injection, the same analysis indicated a significant Group effect ( $F(2-29)=3.08$ ,  $p=0.05$ ) and Time effect ( $F(5-145)=23.02$ ,  $p<.001$ ), with no interaction between these two factors ( $F<1$ ). Planned comparisons during the amphetamine phase showed that SPS-V rats demonstrated locomotor activities significantly lower than CTRL ( $F(1-19)=5.83$ ,  $p=0.024$ ), and SPS-R rats ( $F(1-20)=4.26$ ,  $p=0.049$ ), with no difference between these last two groups ( $F<1$ ).

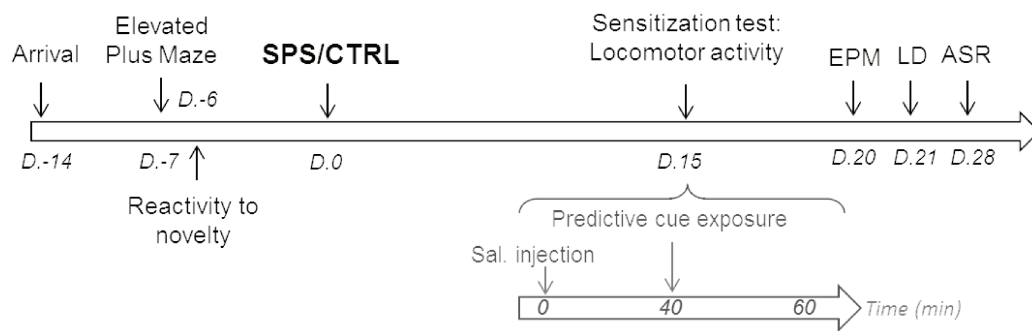
*As expected, trauma vulnerable rats were significantly different resilient and CTRL rats in response to a stimulation of the noradrenergic system induced by amphetamine. However, instead of a behavioral sensitization, a behavioral de-sensitization was obtained in these rats.*

## **2. Experiment 2: Behavioral sensitization to trauma-associated cues**

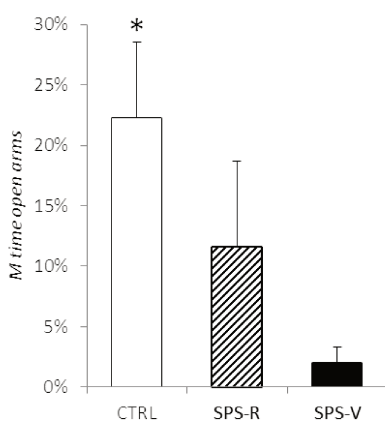
### **2.1. PTSD-like symptoms (Fig.3).**

In Experiment 2, using the same procedure than in Experiment 1, PTSD-like symptoms were assessed between D20 and D28. When the three symptom tests were considered, 6 rats among the 11 traumatized rats exhibited 2 or 3 symptom criteria and were thus classified as vulnerable (55%), while the remaining rats were considered as resilient (45%). Three different groups were thus considered: a control group (CTRL;  $n=10$ ), a trauma resilient group (SPS-R;  $n=5$ ) and a trauma vulnerable group (SPS-V;  $n=6$ ).

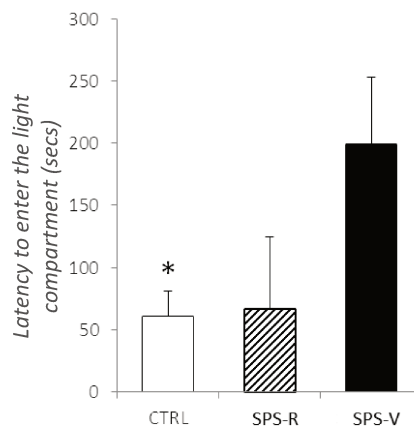
### A) General protocol of Experiment 2



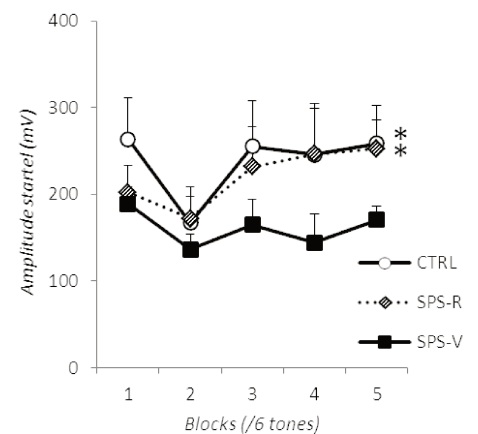
### B) Elevated Plus Maze – D20



### C) Light Dark – D21



### D) Acoustic Startle Response D-28



### Figure 3: Experiment 2

**A) Timeline of general protocol:** Rats were behaviourally characterized one week before the trauma with an elevated plus maze test and with a reactivity to novelty test. The trauma procedure was performed at D0, two weeks after the arrival of animals. The behavioral tests used to determine resilient and vulnerable rats were performed between D20 and 28. The amphetamine challenge takes place at D15. Three behavioral tests were used to identify vulnerable and resilient rats. **B) Elevated Plus Maze (D20):** percentage of time spent in open arms during a 5-min period. **C) Light-dark (D21):** mean of the latency to enter the lighted compartment (in secs) during a 5-min period. **D) Acoustic startle response (D28) test:** mean of startle amplitude (mV) during a 16-min period. Data are expressed as mean  $\pm$  standard error of the mean (SEM).  $^* .05 > p > .01$ ;  $^{**} .01 > p > .001$ ;  $^{***} p < .001$ .

Analyses performed on the percentage of time spent in open arms in the Elevated Plus Maze test (D20), revealed a Group effect ( $F(2,18)=3.16$ ,  $p=0.055$ ) with SPS-V rats spending less time in open arms than CTRL ( $F(1,14)=6.18$ ,  $p=0.025$ ), and with SPS-R which did not differ from the other two groups. For the Light-Dark test performed on the following day, ANOVA revealed a Group effect ( $F(2,18)=3.73$ ,  $p=0.04$ ), with SPS-V rats showing a higher latency to enter the lighted compartment

than CTRL rats ( $F(1-14)=8.07$ ,  $p=0.01$ ), and with SPS-R rats which did not differ from CTRL ( $F<1$ ) and from SPS-V rats ( $F(1-9)=2.79$ ,  $p=0.12$ ). Finally, for the last three blocks of the acoustic startle response test, the Group effect failed just short of the significance level ( $F(2-18)=2.97$ ,  $p=0.06$ , D28), with SPS-V rats differing from the other two groups ( $F(1-14)=4.73$ ,  $p=0.039$  for CTRL,  $F(1-9)=1.03$ ,  $p=0.05$  for SPS-R). In each test presented here, CTRL and SPS-R behaved similarly ( $F_s<1$ ).

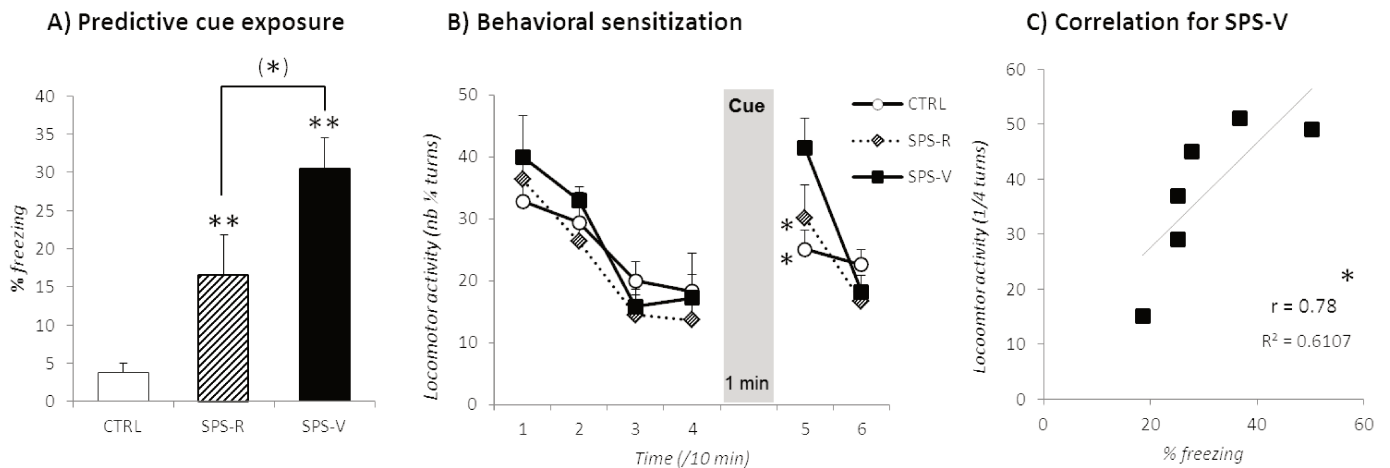
*Vulnerable traumatized rats exhibited significantly more anxiety and larger alteration of arousal than control rats, while trauma resilient rats never differed from control rats.*

## **2.2. Cue test (Fig.4)**

In this experiment, we formulated the hypothesis that a short exposure (1 min) to a trauma-associated cue, delivered 15 days after the SPS would be able to stimulate the noradrenergic system. Accordingly a pre-test exposure to the predictive cue should be able to induce a behavioral sensitization in the trauma-vulnerable rats. During the one-min exposure to the predictive cue (i.e. the safe compartment of the inhibitory avoidance apparatus; Fig.4A), ANOVA performed on percent of freezing revealed a Group effect ( $F(2-18)=18.56$ ,  $p<.001$ ), with both traumatized groups and groups of rats showing significantly more freezing than the CTRL group (SPS-V :  $F(1-14)=49.56$ ,  $p<.001$  and SPS-R:  $F(1-13)=10.31$ ,  $p=0.006$ , respectively) and with SPS-V group showing more freezing than SPS-R group, although the difference did not reach a significance level ( $F(1-9)=4.05$ ,  $p=0.07$ ).

Before and after the cue exposure, rats were placed in the corridor test, as illustrated in Fig.4B. Before the cue exposure, the level of activity significantly decreased ( $F(5-90)=113$ ,  $p<.001$ ), with no Group effect. Exposure to the predictive cue resulted in a significant increase of the locomotor activity relative to the pre-exposure period ( $F(1-18)=17.27$ ,  $p<.001$ ). However, this effect was only obtained for the SPS-V rats ( $F(1-5)=9.07$ ,  $p=0.04$  for SPS-V,  $F(1-4)=4.87$ ,  $p=0.077$  for SPS-R,  $F(1-9)=3.62$ ,  $p=0.087$  for CTRL). During the first 10 min following the cue exposure, the analyses of the activity scores revealed a Group effect ( $F(2-18)=3.75$ ,  $p=0.042$ ), with SPS-V group showing a significant sensitization when compared to CTRL ( $F(1-13)=9.05$ ,  $p=0.009$ ), but not to SPS-R groups ( $F(1-9)=2.37$ ,  $p=0.15$ ).

Moreover, for the SPS-R rats, the locomotion scores obtained immediately after the cue exposure were correlated to the level of freezing during the cue exposure (Fig.4C,  $r = 0.78$ ,  $p=0.05$ ). There was not correlation for the other two groups (CTRL:  $r = 0.16$ , ns; SPS-R:  $r = -0.5$ , ns), indicating that the relationship between these two indexes was restricted to vulnerable rats.



**Figure 4: trauma-associated cue test.**

**A) Exposure to the predictive cue:** percentage of freezing during the 1-min exposure to the predictive cue. **B) Cue test on behavioral sensitization:** Locomotor activity (number of 1/4 turns) obtained before and after the cue exposure (10 min blocks) for CTRL and trauma-resilient and vulnerable rats. **C) Correlation between the level of freezing during the cue exposure and locomotor activity developed after the cue exposure in SPS-V rats.** Data are expressed as mean  $\pm$  standard error of the mean (SEM).  $^*0.05 > p > .01$ ;  $^{**}0.01 > p > .001$ ;  $^{***}p < .001$ .

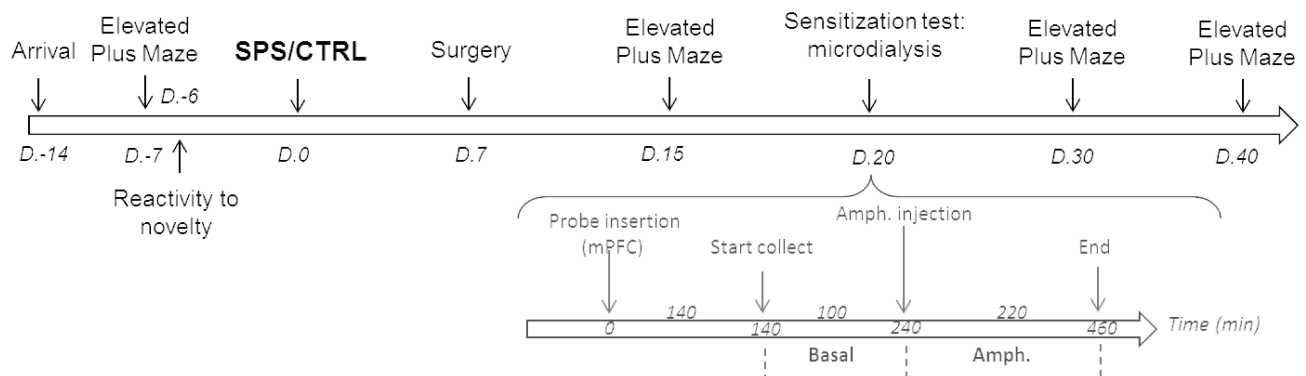
According to our hypothesis, trauma vulnerable rats demonstrated a behavioral sensitization in response induced by the exposure to a trauma-associated cue, probably in response to a stimulation of the noradrenergic system

### **3. Experiment 3: Neurochemical sensitization to amphetamine**

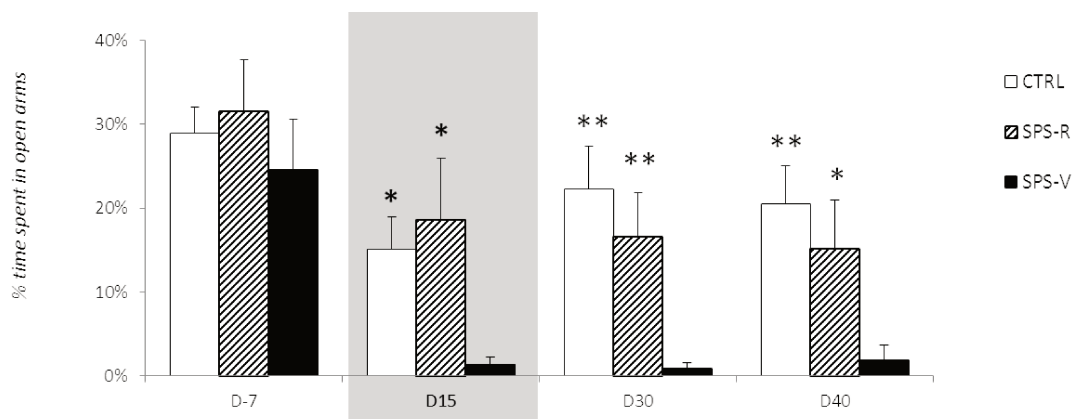
#### **3.1. PTSD-like symptoms (Fig.5)**

The aim of this experiment was to investigate the possibility that trauma induces a neurochemical sensitization.

### A) General protocol of Experiment 3



### B) Repeated EPM



**Figure 5: Experiment 3**

**A) Timeline of general protocol:** Rats were behaviourally characterized one week before the trauma with an elevated plus maze test and with a reactivity to novelty test. The trauma procedure was performed at D0, two weeks after the arrival of animals. A microdialysis canula was inserted in the mPFC area one week after the SPS (or CTRL) procedure. Rats were determined as resilient or vulnerable on the basis of an EPM test delivered at D15. The amphetamine test took place at D20. **B) Elevated Plus Maze:** several Elevated plus maze tests were performed throughout the experiment: at D-7, to determine the basal level of anxiety, at D15 to determine resilient and vulnerable rats and at D30 and D40, after the amphetamine test. percentage of time spent in open arms during a 5-min period at D-7, D15, D30 and D40. Data are expressed as mean  $\pm$  standard error of the mean (SEM). \*.05>p>.01; \*\*.01>p>.001; \*\*\*p<.001.

In order to decrease as much as possible the possible interaction between multiple behavioural tests and the amphetamine test, rats were determined as Vulnerable and Resilient only on the basis of the elevated plus maze test (D15). Such approximation

seems rather good since when applied for Experiment 1, 9 of the 11 SPS-V rats (82%) would have been selected as vulnerable. With this method, 7 of the 14 SPS rats were characterized as vulnerable (50%). So Experiment 3 included three different groups: a control group (CTRL; n=14), a of trauma-resilient group (SPS-R; n=7 but n=5 after histological analysis) and a trauma-vulnerable groups (SPS-V; n=7).

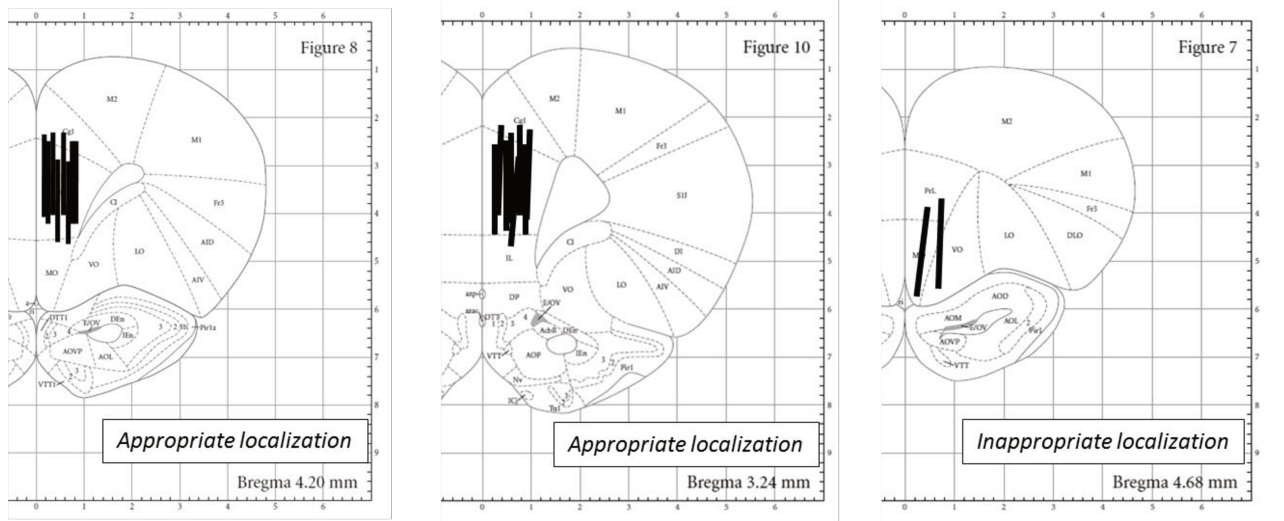
The present experiment included several EPM tests (See Fig.5B). The aim of the first EPM test was performed before the trauma (D-6) in order to determine the basal level of anxiety of each rat, to form the different experimental groups. The second EPM test, delivered on day 15, was used to classify rats in vulnerable and resilient groups. The two other tests performed on day 30 and 40 gave an appraisal of the level of anxiety in the different groups, long after the trauma. ANOVAs performed on the percentage of time spent in open arms revealed a significant Group effect only for the tests performed after the trauma (D15:  $F(2-23)=3.41$ ,  $p=0.04$ ; D30:  $F(2-23)=4.66$ ,  $p=0.019$ ; D40:  $F(2-23)=4.11$ ,  $p=0.029$ ), with SPS-V rats spending less time in open arms than CTRL ( $6.04 < F(1-19) < 8.58$ ,  $.008 < p < .022$ )  $F(1-19)=6.04$ ,  $p=0.022$ ) and than SPS-R ( $6.42 < F(1-10) < 12.41$ ,  $.028 < p < .005$ ).

*Trauma-vulnerable traumatized rats showed more anxiety than both control and Trauma-resilient rats, even 40 days after the trauma.*

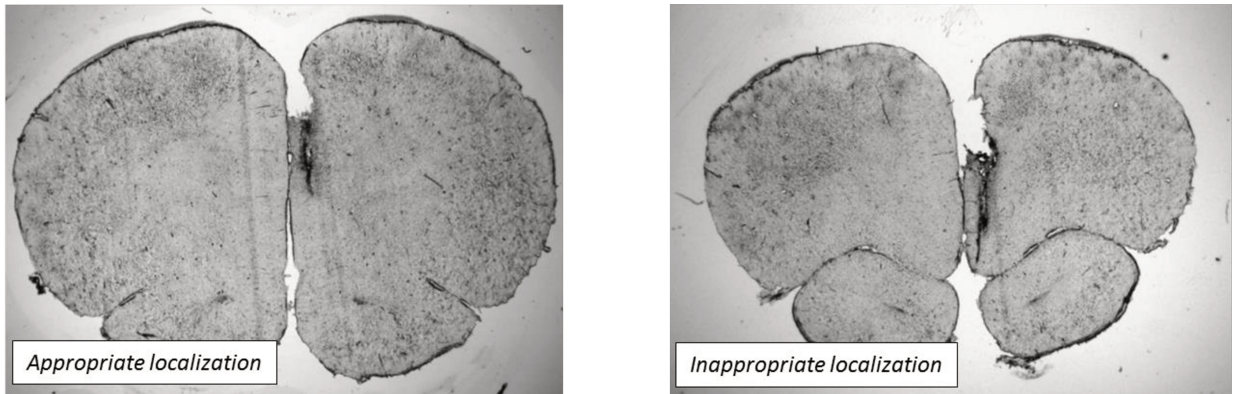
### **3.2. mPFC noradrenaline release (D 20- Fig.6)**

The microdialysis probe was inserted within the medial prefrontal cortex, at the level of the prelimbic cortex (Fig.S1). Among the 14 SPS rats, two of them were eliminated because of an incorrect location of the cannula (see Fig S1). Noradrenaline release was thus studied on three groups: CTRL (n=14), SPS-R (n=5) and SPS-V (n=7) groups.

**A) Localisation of microdialysis probes**



**B) Typical microscope picture of brain slices**

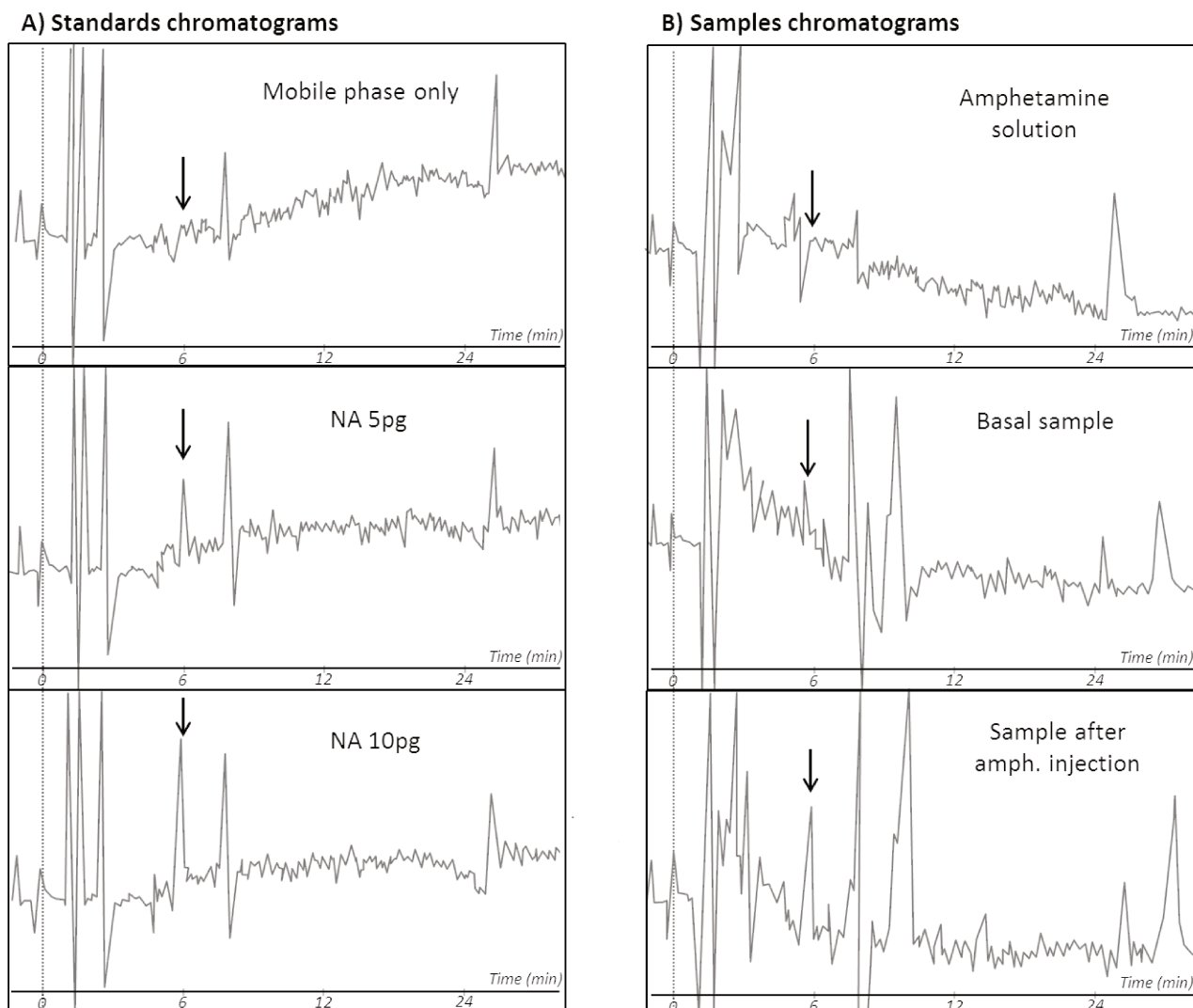


**Figure S1: Microdialysis probe**

**A) Localization of microdialysis probes:** schematic representation by black lines. **B) Typical microscope picture of brain slices.**

Typical chromatograms of the HPLC analyses were shown on Fig.S2. Samples were collected every 20 min, over a 320 min period, beginning 140 min after the probe insertion.



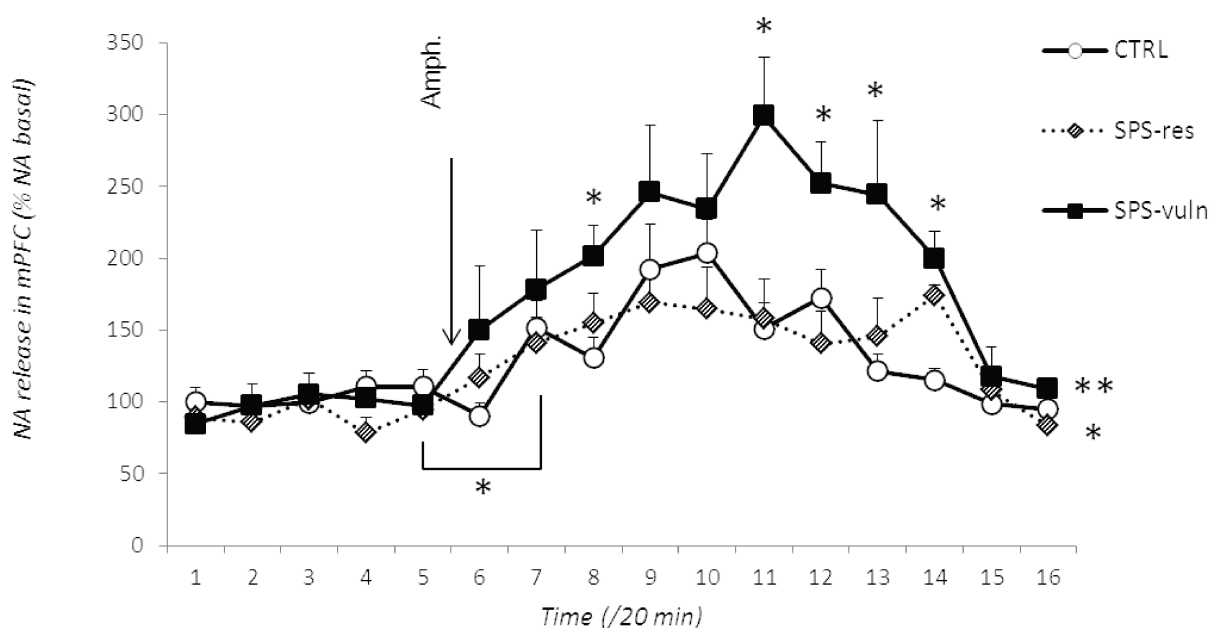


**Figure S2: Representative chromatograms for different samples**

**A) For standard chromatograms:** with mobile phase only (upper part), 5pg of standard NA (middle part), and 10 pg of standard NA (lower part). **B) For samples chromatograms:** with amphetamine solution (upper part), a typical basal sample (before amphetamine injection, middle part), and after amphetamine injection (lower part)

For the first samples (1-5) collected during the first 100 min, which determined the basal level of NA release, there was no between groups difference ( $F < 1$ ). The acute *d*-amphetamine (1 mg/kg) injection induced an increase in cortical extracellular NA level in every group (Fig 10). Relative to the basal level, increases began to be significant 40 min after the amphetamine injection ( $F(1-23)=11.29$ ,  $p=0.002$ ). This effect was obtained for every group of rats (CTRL:  $F(1-13)=6.55$ ,  $p=0.02$ ; SPS-R:  $F(1-4)=8.80$ ,  $p=0.04$ ; SPS-V:  $F(1-6)=12.79$ ,  $p=0.01$ ).

## Amphetamine test on noradrenergic release



**Figure 6: Noradrenergic release in response to amphetamine**

NA release in mPFC (% of NA basal) as a function to the time (/20 min) obtained for CTRL and trauma-resilient and vulnerable rats. Data are expressed as mean  $\pm$  standard error of the mean (SEM). \*.05>p>.01; \*\*.01>p>.001; \*\*\*p<.001.

The analyses performed during the 220-min period taking place after the amphetamine injection (Fig.6) showed a Group effect, ( $F(2-23)=4.21$ ,  $p=0.02$ ), with vulnerable rats exhibiting higher increases in cortical extracellular NA level than CTRL ( $F(1-19)=6.81$ ,  $p=0.016$ ), and SPS-R rats ( $F(1-10)=5.36$ ,  $p=0.04$ ), which did not differ the one from the other ( $F<1$ ). The level of NA release become statistically higher than the basal level 40 min after the amphetamine injection for all groups ( $F(1-23)=11.29$ ,  $p=0.002$ ). A Group effect for a particular sample is obtained for 60min ( $F(2-23)=3.96$ ,  $p=0.03$ ), 120min ( $F(2-23)=8.94$ ,  $p=0.0001$ ), 140min ( $F(2-23)=4.18$ ,  $p=0.027$ ), B13 ( $F(2-23)=4.18$ ,  $p=0.026$ ) and 180min post injection ( $F(2-23)=12.65$ ,  $p=0.01$ ). SPS-V rats were statistically different from CTRL during blocks B8, 11, 12, 13 and 14 ( $F(1-19)=7.52$ ,  $p=0.012$ ; 15.42,  $p<.001$ ; 5.15,  $p=0.033$ ; 9.75,  $p=0.005$ ; 22.40,  $p<.001$  respectively), and from SPS-R during Blocks 11 and B12 ( $F(1-10)=6.97$ ,  $p=0.02$ ; 7.87,  $p=0.018$ ).

*According to our hypothesis, trauma vulnerable rats demonstrated a neurochemical sensitization in response to a stimulation of the noradrenergic system induced by amphetamine.*

## **DISCUSSION**

According to our hypothesis of common physiological basis for PTSD and drug addiction, a behavioral and a neurochemical sensitization described after repeated drug injections (Lanteri et al., 2008, 2014), were expected to take place after a trauma. The present results confirm that after a single prolonged stress exposure (SPS), an animal model of PTSD, only some traumatized rats developed PTSD-like symptoms such as anxiety and arousal. In those trauma-vulnerable rats, the activation of the monoaminergic systems by an amphetamine injection was able to induce a noradrenergic sensitization evidenced within the prefrontal cortex. In addition changes in locomotor activity in response to amphetamine were also obtained in these SPS-vulnerable rats. However, instead of showing a behavioral sensitization, a desensitization (which did not result from stereotypies) was obtained. However, substituting the amphetamine injection by an exposure to trauma-associated cues induced a transient behavioral sensitization in the trauma-vulnerable rats. Each of these results will be discussed in the light of our hypothesis postulating similarities of the processes taking place after both trauma and drug exposures.

### **SPS outcomes**

Our previous results indicated rats, selected on the basis of three behavioral tests related to PTSD-like symptoms such as anxiety and arousal, further displayed other PTSD-like symptoms and demonstrated strong fear responses to trauma-associated cues (Le Dorze and Gisquet-Verrier, 2016). The present results confirm that, when selected on the same basis, vulnerable rats demonstrated a higher anxiety and an arousal alteration than the resilient rats which behaved like the controls rats, confirming the validity of our procedure. The present results also confirmed that reactivity to the novelty is not involved in the vulnerability to the trauma since there were similar percent of low and high responders in resilient and vulnerable rats. Coherent with our previous findings we showed that more than 70% of vulnerable

rats were classified as anxious before the SPS, confirming that the anxiety trait is implicated in the development of PTSD-like symptoms (Le Dorze and Gisquet-Verrier, 2016).

### **Trauma and behavioral sensitization/desensitization**

The present results indicated that a trauma affects the expression of the amphetamine-induced behavioral sensitization in rats that were vulnerable to the trauma. However, while a sensitization was initially expected, the trauma induced a desensitization.

Evidence indicates that chronic stress generated either by restraint stress, footshocks, social defeat or maternal separation can induce a behavioral sensitization (i.e. a cross-sensitization, Antelman et al., 1980), in response to an amphetamine injection (Herman et al., 1984; Meaney et al., 2002; Nikulina et al., 2004; Dietz et al., 2008; Cruz et al., 2012), which can maintain for more than 2 months (Nikulina et al., 2004). Acute stress have also been reported to induce amphetamine induced cross-sensitizations but only over short periods of time (3 to 5 days; Díaz-Otañez et al., 1997; de Jong et al., 2005). We were the first to report a behavioral sensitization in some of the rats exposed to a PTSD animal model, the SPS (Toledano et al., 2013). In fact, when rats were separated into high and low responders on the basis of their reactivity to novelty, a behavioral sensitization was obtained for the LR rats, while HR rats exhibited a behavioral desensitization. Here, our results showed that vulnerable rats demonstrated a behavioral desensitization when compared to both control and resilient rats. The easiest way to account for this desensitization is the occurrence of stereotypies known to take place when high doses of drug are delivered (Kuczenski et al., 1991). However, this hypothesis seems unlikely for several reasons. First we did not notice any stereotypies in our rats. In addition, we showed in a previous paper that SPS rats demonstrating a desensitization after a single amphetamine injection, showed a progressive increase of their motor activity when additional amphetamine injections were delivered, a result suggesting that the initial desensitization was not related to stereotypies (Toledano et al., 2013). Finally, all the few studies reporting decreases in locomotor activities after repeated amphetamine or cocaine treatments rejected the possibility that they might be related with development of stereotypical responses (Altoa et al., 2007; Scholl et al., 2009). The other possibility is that desensitization resulted from

an excessive noradrenergic release affecting receptors function/density. This hypothesis has already been proposed in a previous paper (Toledano and Gisquet-Verrier, 2016), and will be examined after considering the results obtained for the neurochemical sensitization. According to this view, one may expect that after a weaker stimulation of the noradrenergic system than the one provided by the amphetamine injection, a sensitization should be obtained. Interestingly, when the amphetamine injection was substituted by an exposure to a trauma-reminder, a behavioral sensitization instead of a desensitization was obtained in SPS-vulnerable rats. This result supports the view that the desensitization may result from an excessive stimulation of the noradrenergic system. In a previous study, we showed that exposure to cues associated with repeated amphetamine injections induced a behavioral sensitization during an amphetamine test delivered 3 weeks later (Toledano and Gisquet-Verrier, 2016). This latter result was in line with another one indicating that after repeated pairings between music and metamphetamine, the exposure to music increased the locomotor activity, as well as dopamine release within the accumbens nucleus (Polston and Glick, 2011). These results indicate that exposure to drug and trauma-associated cues are both able to induce the expression of a behavioral sensitization, and thus possibly to stimulate the noradrenergic system, strengthening the similarities between drug and trauma consequences. This possibility may account for the cue-induced re-experiencing characterizing PTSD and for the cue-induced drug craving characterizing dependence to drug of abuse, which are well known to play an important role in the maintenance of the pathologies, as well as on relapses (Le Dorze and Gisquet-Verrier, in press).

### **Trauma and neurochemical sensitization**

The present results indicated that after a traumatic stress, the activation of the monoaminergic system by a psychostimulant resulted in increases of NA release within the mPFC which was only exacerbated for the SPS vulnerable rats. Interestingly, the NA releases obtained for the resilient rats were undistinguishable from those observed in control rats. After an amphetamine injection delivered 20 days after the trauma, increases of NA release were significantly larger than the one observed on the other rats over a period of 140 min. This result indicates that the trauma durably increases the reactivity of noradrenergic neurons, inducing a stable

sensitization of noradrenergic neurons after a trauma. They further suggest that mechanisms underlying this sensitization are linked to the trauma vulnerability.

The present results show for the first time that the sensitization of noradrenergic neurons, already reported in mice after repeated injection of amphetamine and other psychostimulants (Tassin, 2008), can be reproduced in rats exposed to a trauma. In mice, the sensitization of the noradrenergic system, evidenced 4 days after the end of the drug treatment, was still present after one month. The present results indicate that the noradrenergic sensitization taking place after a trauma, is evidenced more than three weeks after the trauma. After repeated amphetamine injections, the sensitization was reported on all the considered mice, while in the present experiment the sensitization was only obtained for SPS vulnerable rats. This might appear as a difference between drug and trauma. However, it must be noted that in the study performed on mice, animals that did not show NE increases after the repeated drug treatment were eliminated, suggesting that at least some mice were resilient to the drug treatment, as rats are after a trauma.

**Potential explanation accounting for a noradrenergic sensitization associated with a behavioral desensitization.**

As previously mentioned, it has been proposed that the repeated consumption of drug of abuse in mice, like cocaine, methamphetamine and amphetamine, induced repeated activation of noradrenergic and/or serotonergic neurons (Tassin, 2008). As a consequence, the noradrenergic neurons located in the mPFC becomes hyper-reactive, inducing a persistent desensitization of somatodendritic alpha<sub>2</sub> A-adrenergic autoreceptor function which results in massive NA releases in the brain, and particularly in the prefrontal cortex (Lanteri et al., 2014). For these authors, such receptor desensitization is responsible for the loss of inhibitory control these two systems exert the one to the other, leading to their uncoupling (Salomon et al., 2006; Lanteri et al., 2008, 2009, 2014; Tassin, 2008).

During the amphetamine test, increases of the cortical noradrenergic transmission induced by the d-amphetamine injection exert, at least partly, its effect via the stimulation of the alpha-1b adrenergic receptors located within the PFC, as well as in the ventral tegmental area (Stephans and Yamamoto, 1995; Tzschentke and Schmidt, 2003), inducing a stimulatory effect on dopaminergic neurons innervating

subcortical structures such as the nucleus accumbens, mediating the locomotor hyperactivity observed after repeated drug use (Darracq et al., 1998; Tassin, 2008). We proposed that a similar scheme takes place in trauma vulnerable rats. Accordingly, increased NA releases in the mPFC and a behavioral sensitization were expected in response to a d-amphetamine injection. Although our results confirmed increases of the cortical noradrenergic transmission, a behavioural desensitization was obtained instead of a sensitization. We proposed that SPS-vulnerable rats, like HR rats (Toledano and Gisquet-Verrier, 2016), present a form of spontaneous noradrenergic pre-sensitization. In those rats, massive increases in noradrenergic activity resulting from trauma, added to their basis noradrenergic pre-sensitization, may rapidly induce down regulation of the alpha-1b adrenergic receptors, known to control the activation of the nucleus accumbens, via a dopaminergic transmission. As a consequence, increases in cortical NA in these SPS-vulnerable rats, release will lead to a reduced locomotor activity. According to that schema, the desensitization might be view as an hypersensitization, a result in agreement with the data obtained in the microdialysis study.

## **Conclusion**

The present results provide several additional clues strengthening the similarity between PTSD and dependence to drug of abuse. We showed that exposure to trauma-related cues is able to reveal a behavioral sensitization, such as the exposure to drug-associated cues (Polston and Glick, 2011; Toledano and Gisquet-Verrier, 2016). In addition, we showed that trauma has long-term consequences on the noradrenergic system in vulnerable rats, increasing the reactivity of noradrenergic neurons and inducing a stable sensitization of noradrenergic neurons that can be evidenced more than three weeks thereafter. Trauma also induces consequences on the locomotor activity developed in response to an amphetamine injection. In fact, a behavioral desensitization was obtained, while a sensitization was observed in addicted mice. However, we proposed that this sensitization might be the consequences of the cortical noradrenergic sensitization. All these findings constitute strong evidence supporting the idea that trauma and addiction rely some common physiological process: an uncoupling of the monoamine systems. We must acknowledge that our experiments only concern the noradrenergic system and not the serotonergic system and that complementary results are required to establish

this point. However, our results are already quite convincing. Obviously drug addiction and PTSD are two different pathologies that cannot be considered as similar and supported by the same disruptions. However, these pathologies are characterized by similarities, namely their hyper-reactivity to drug and trauma-associated cues that is explained by the same dysfunctioning. We proposed that in both cases, exposure to out of range events such as a trauma or a drug of abuse breaks the inhibitory control that the noradrenergic and the serotonergic system exert on each other, inducing an hyper-reactivity of both the noradrenergic and the serotonergic neurons. Such an uncoupling could account for the hyper-reactivity to drug and trauma-associated cues, inducing craving and re-experiencing, respectively which are responsible for the high rates of relapse in these pathologies. Such a view gave rise to promising new therapeutic approaches that recently started to be explored. The first one corresponds to attempts to recouple the monoamine system. This idea has been recently explored and it has been shown that delivering a combination of alpha 1b and 5HT2A receptor antagonists in alcohol dependent mice blocked the behavioral sensitization to amphetamine and reversed their alcohol preference (Trovero et al., 2016). The aim of the second one is to modify the emotional valence of the trauma/drug memory in order to reduce the consequences of drug/trauma reminders. Up to now, such an emotional remodeling, combining a pharmacological treatment with memory reactivation, has been shown to be effective in traumatized rats (Toledano and Gisquet-Verrier, 2014) as well as on cocaine addicted human (Chopin et al., 2016).



## ACKNOWLEDGMENTS

Funding: Claire Le Dorze was supported by a DGA-MRIS (Direction Générale de l'Armement) scholarship. We are very grateful to Prof. DC. Riccio for the correction of the English text. We thank Aurelie Bonilla, Céline Dubois and Fabien Lhéricel for the animal care. We thank IRBA (Institute de Recherche Biomédicale des Armées) for the lend of a neurochemical detection cell used for HPLC analyses.

## CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

## REFERENCES

- Alttoa A, Eller M, Herm L, Rincken A, Harro J. 2007. Amphetamine-induced locomotion, behavioral sensitization to amphetamine, and striatal D2 receptor function in rats with high or low spontaneous exploratory activity: differences in the role of locus coeruleus. *Brain Res* 1131:138–148.
- Antelman SM, Eichler AJ, Black CA, Kocan D. 1980. Interchangeability of stress and amphetamine in sensitization. *Science* 207:329–331.
- Błaszczuk JW, Tajchert K, Werka T. 1999. Effect of nonaversive and aversive stimulations in infancy on the acoustic startle response in adult rats. *Acta Neurobiol Exp (Wars)* 59:9–14.
- Chopin M-V, Peretti C-S, Gisquet-Verrier P, Hoffmann C, Belaïd A, Chouinard G. 2016. Cocaine Use Disorder Treated with Specific Cognitive Behavioral Therapy and Adjunctive Propranolol. *Psychother Psychosom* 85:61–63.
- Cruz FC, Marin MT, Leão RM, Planeta CS. 2012. Stress-induced cross-sensitization to amphetamine is related to changes in the dopaminergic system. *J Neural Transm* 119:415–424.
- Darracq L, Blanc G, Glowinski J, Tassin JP. 1998. Importance of the noradrenaline-dopamine coupling in the locomotor activating effects of D-amphetamine. *J Neurosci* 18:2729–2739.
- Díaz-Otañez CS, Capriles NR, Cancela LM. 1997. D1 and D2 dopamine and opiate receptors

- are involved in the restraint stress-induced sensitization to the psychostimulant effects of amphetamine. *Pharmacol Biochem Behav* 58:9–14.
- Dietz DM, Dietz KC, Moore S, Ouimet CC, Kabbaj M. 2008. Repeated social defeat stress-induced sensitization to the locomotor activating effects of d-amphetamine: role of individual differences. *Psychopharmacology (Berl)* 198:51–62.
- Le Dorze C, Gisquet-Verrier P. 2016. Sensitivity to trauma-associated cues is restricted to vulnerable traumatized rats and reinstated after extinction by yohimbine. *Behav Brain Res* 313:120–134.
- Le Dorze C, Tassin J-P, Gisquet-verrier P. 2016. Vulnerable traumatized rats demonstrate increases in medial prefrontal noradrenergic release: A support to the hypothesis of common physiological bases for PTSD and dependence to drugs of abuse. In: FENS - Copenhagen (02 - 06 July).
- Doucet EL, Bobadilla A-C, Houades V, Lanteri C, Godeheu G, Lanfumey L, Sara SJ, Tassin J-P. 2013. Sustained impairment of  $\alpha$ 2A-adrenergic autoreceptor signaling mediates neurochemical and behavioral sensitization to amphetamine. *Biol Psychiatry* 74:90–8.
- Gisquet-Verrier P, Tolédano D, Le Dorze C. 2016. Bases physiologiques communes pour les troubles de stress post-traumatique et la dépendance aux drogues d'abus : Conséquences pour de nouvelles approches thérapeutiques. *Thérapie*.
- Herman JP, Stinus L, Le Moal M. 1984. Repeated stress increases locomotor response to amphetamine. *Psychopharmacology (Berl)* 84:431–435.
- de Jong JG, Wasilewski M, van der Vegt BJ, Buwalda B, Koolhaas JM. 2005. A single social defeat induces short-lasting behavioral sensitization to amphetamine. *Physiol Behav* 83:805–811.
- Kuczenski R, Segal DS, Aizensteiw ML. 1991. Amphetamine, Cocaine, and Fencamfamine: Relationship between Locomotor and Stereotypy Response Profiles and Caudate and Accumbens Dopamine Dynamics. *J Neurosci* 11:2703–2712.
- Lanteri C, Doucet EL, Hernández Vallejo SJ, Godeheu G, Bobadilla A-C, Salomon L, Lanfumey L, Tassin J-P. 2014. Repeated exposure to MDMA triggers long-term plasticity of noradrenergic and serotonergic neurons. *Mol Psychiatry* 19:823–833.
- Lanteri C, Hernández Vallejo SJ, Salomon L, Doucet EL, Godeheu G, Torrens Y, Houades V, Tassin J-P. 2009. Inhibition of monoamine oxidases desensitizes 5-HT<sub>1A</sub> autoreceptors and allows nicotine to induce a neurochemical and behavioral sensitization. *J Neurosci*

29:987–997.

- Lanteri C, Salomon L, Torrens Y, Glowinski J, Tassin J-P. 2008. Drugs of abuse specifically sensitize noradrenergic and serotonergic neurons via a non-dopaminergic mechanism. *Neuropsychopharmacology* 33:1724–1734.
- Liberzon I, Krstov M, Young E a. 1997. Stress-restress: effects on ACTH and fast feedback. *Psychoneuroendocrinology* 22:443–453.
- Meaney MJ, Brake W, Gratton A. 2002. Environmental regulation of the development of mesolimbic dopamine systems: a neurobiological mechanism for vulnerability to drug abuse? *Psychoneuroendocrinology* 27:127–138.
- Nikulina EM, Covington HE, Ganschow L, Hammer RP, Miczek KA. 2004. Long-term behavioral and neuronal cross-sensitization to amphetamine induced by repeated brief social defeat stress: Fos in the ventral tegmental area and amygdala. *Neuroscience* 123:857–865.
- Piazza P V, Deminière JM, Le Moal M, Simon H. 1989. Factors that predict individual vulnerability to amphetamine self-administration. *Science* 245:1511–1513.
- Polston JE, Glick SD. 2011. Music-induced context preference following cocaine conditioning in rats. *Behav Neurosci* 125:674–680.
- Rouanet H, Bernard JM, Leroux B. 1990. *Statistiques en sciences humaines: Analyse inductive des donnees*. Dunot. Paris.
- Salomon L, Lanteri C, Glowinski J, Tassin J-P. 2006. Behavioral sensitization to amphetamine results from an uncoupling between noradrenergic and serotonergic neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:7476–7481.
- Scholl JL, Feng N, Watt MJ, Renner KJ, Forster GL. 2009. Individual differences in amphetamine sensitization, behavior and central monoamines. *Physiol Behav* 96:493–504.
- Solanki N, Alkadhi I, Atrooz F, Patki G, Salim S. 2015. Grape powder prevents cognitive, behavioral, and biochemical impairments in a rat model of posttraumatic stress disorder. *Nutr Res* 35:65–75.
- Stephans SE, Yamamoto BY. 1995. Effect of repeated methamphetamine administrations on dopamine and glutamate efflux in rat prefrontal cortex. *Brain Res* 700:99–106.
- Tassin J-P. 2008. Uncoupling between noradrenergic and serotonergic neurons as a molecular basis of stable changes in behavior induced by repeated drugs of abuse.

- Biochem Pharmacol 75:85–97.
- Tassin JP, Stinus L, Simon H, Blanc G, Thierry AM, Le Moal M, Cardo B, Glowinski J. 1978. Relationship between the locomotor hyperactivity induced by A10 lesions and the destruction of the fronto-cortical dopaminergic innervation in the rat. *Brain Res* 141:267–81.
- Thierry AM, Tassin JP, Blanc G, Glowinski J. 1976. Selective activation of mesocortical DA system by stress. *Nature* 263:242–4.
- Toledano D, Gisquet-Verrier P. 2014. Only susceptible rats exposed to a model of PTSD exhibit reactivity to trauma-related cues and other symptoms: An effect abolished by a single amphetamine injection. *Behav Brain Res* 272:165–174.
- Toledano D, Gisquet-Verrier P. 2016. Repeated amphetamine injections alter behavior and induce a delayed behavioral sensitization modulated by reactivity to novelty: Similarities and differences with trauma consequences. *Eur Neuropsychopharmacol* 26:456–466.
- Toledano D, Tassin J-P, Gisquet-Verrier P. 2013. Traumatic stress in rats induces noradrenergic-dependent long-term behavioral sensitization: role of individual differences and similarities with dependence on drugs of abuse. *Psychopharmacology (Berl)* 230:465–476.
- Trovero F, David S, Bernard P, Puech A, Bizot J-C, Tassin J-P. 2016. The Combination of Marketed Antagonists of  $\alpha$ 1b-Adrenergic and 5-HT<sub>2A</sub> Receptors Inhibits Behavioral Sensitization and Preference to Alcohol in Mice: A Promising Approach for the Treatment of Alcohol Dependence. *PLoS One* 11:e0151242.
- Tzschentke TM, Schmidt WJ. 2003. Glutamatergic mechanisms in addiction. *Mol Psychiatry* 8:373–82.
- Vezina P, Blanc G, Glowinski J, Tassin JP. 1992. Nicotine and morphine differentially activate brain dopamine in prefrontocortical and subcortical terminal fields: effects of acute and repeated injections. *J Pharmacol Exp Ther* 261:484–90.



## III – Tentatives thérapeutiques

### 1. Modulation des symptômes du TSPT en fonction des conditions d'injections d'amphétamine

#### ***Publication n°4***

---

### **Effets opposés de l'amphétamine sur des symptômes de type TSPT chez des rats traumatisés : mise en évidence d'un remodelage émotionnel des souvenirs.**

---

*Claire Le Dorze, Pascale Gisquet-Verrier*

#### 1.1. But article

La recherche de nouveaux traitements thérapeutiques pour le TSPT est primordiale. Connaissant l'importance des reviviscences et indices de rappel et leur implication dans la pathologie, diminuer leur impact chez des sujets TSPT est une voie possible pour le traitement de cette pathologie. On sait qu'un souvenir réactivé est malléable et qu'il peut être modifié par l'intégration de nouvelles informations. La plupart du temps, les informations intégrées concernent le contexte. Le but de cette étude est de montrer qu'il est également possible de modifier le contenu émotionnel d'un souvenir.

#### 1.2. Que fait l'article

Le remodelage émotionnel consiste à associer un traitement pharmacologique et la réactivation d'un souvenir, afin d'intégrer la valence émotionnelle induite par le traitement dans le souvenir réactivé. Cette étude tente de montrer qu'en appliquant un tel traitement, il est possible de moduler la force des symptômes de type TSPT chez des rats traumatisés soit en les renforçant soit en les diminuant. Ici nous avons utilisé un même traitement : une

injection d'amphétamine dont les effets varient en fonction des conditions dans lesquelles l'injection est délivrée. En effet, l'amphétamine peut induire un état positif ou de relaxation, mais il peut aussi induire de l'anxiété et de l'inconfort.

### 1.3. Méthodes

Les rats sont ainsi soumis au SPS, puis après une période d'incubation de 15 jours, ils sont exposés à un remodelage émotionnel associant une injection d'amphétamine (1mg/kg) et une exposition à un indice associé au traumatisme (indice prédictif). La modulation de l'effet de l'amphétamine est induite par les conditions dans lesquelles l'animal est placé avant et après l'injection (confinement ou non). L'effet du remodelage est ensuite recherché au moyen de différents tests comportementaux ciblant des symptômes de type TSPT, ainsi que la réactivité à certains indices de rappel.

### 1.4. Principaux résultats

Une injection d'amphétamine associée à un protocole de remodelage émotionnel a permis de moduler les symptômes de TSPT. En effet, en fonction des conditions d'injection (état positif ou négatif), nous avons été capables de renforcer ou de diminuer certains symptômes de TSPT, ainsi que la réactivité aux indices associés au SPS.

Bien que ces effets ne s'observent que sur une partie des tests comportementaux effectués, les conséquences sont durables puisqu'elles ont été observées jusque 34 jours après traitement.

### 1.5. Conclusion

Les données obtenues ici indiquent qu'il est possible de changer la valence émotionnelle d'un souvenir. Le remodelage émotionnel permet soit d'amplifier, soit de diminuer durablement les symptômes de type TSPT et semble donc une voie thérapeutique prometteuse pour le traitement du TSPT, et potentiellement pour la dépendance aux drogues d'abus.

**Bidirectional effects of amphetamine  
on PTSD-like symptoms in rats:  
Evidence for Emotional Remodeling of Memory**

**Claire Le Dorze<sup>1</sup>, Pascale Gisquet-Verrier<sup>1\*</sup>**

<sup>1</sup>Neuro-PSI, Université Paris-Sud, CNRS UMR9197,

Université Paris-Saclay, Orsay, France.

\* **Corresponding author:** Pascale Gisquet-Verrier, Neuro-PSI, CNRS UMR9197,  
Bat 446, Université Paris-Sud, 91405 Orsay, France.

[pascale.gisquet@u-psud.fr](mailto:pascale.gisquet@u-psud.fr)



## **ABSTRACT**

When in an active state (after training or reactivation), memory is malleable and can integrate new information. Up to now, demonstration of integration mainly concerned contextual information. The aim of the present paper was to investigate the possibility to integrate emotional information. More precisely we tested the possibility to strengthen or to weaken PTSD-like symptoms by delivering an amphetamine injection associated with the reactivation a trauma memory. Rats were exposed to a Single Prolonged Stress, combining three different stresses (2-hrs restraint, 20-min forced swim and CO<sub>2</sub> unconsciousness). Two weeks later, rats were first treated with saline or amphetamine (1 mg/kg, ip) delivered in conditions that favoured either well-being or anxiety, before being exposed to a trauma-associated cue known as a potent reminder. Few days later, the efficiency of the treatment was assessed on PTSD-like symptoms and on reactivity to trauma-associated cues. The results indicated increased symptoms when the treatment was given in conditions promoting anxiety, and decreased symptoms, when amphetamine was delivered in positive conditions. These results constitute the first demonstration that emotional information can be integrated within a reactivated memory. They further suggest that emotional remodeling can be a novative and interesting therapeutical approach for pathological memories

**Keywords:** Single Prolonged Stress (SPS); Treatment; Emotional remodeling; Vulnerability; PTSD-like symptoms; rats.

## INTRODUCTION

Exposure to training associated cues is known to place the memory in an active state (Lewis, 1979). When active, the memory becomes malleable and can integrate new information such as new events, internal state and context (Briggs et al., 2007; Lee, 2010; Gisquet-Verrier et al., 2015). In a recent experiment, we showed that trauma reactivation while the rats were under the influence of amphetamine (ip injection; 1mg/kg) considerably decreased the trauma consequences (Toledano and Gisquet-Verrier, 2014). We proposed that amphetamine, by inducing a positive state, reduced the emotional valence of the reactivated trauma memory. Because of the malleability of reactivated memory, this reduced emotional valence was integrated within the trauma memory, providing an emotional remodeling of the memory.

Amphetamine is one of the most potent sympathomimetic drugs, producing its effects by increasing synaptic levels of the biogenic amines, dopamine, norepinephrine and serotonin, through multiple mechanisms (Berman et al., 2009). The acute administration of amphetamine produces a wide range of dose-dependent behavioral changes, including increased arousal or wakefulness, anorexia, hyperactivity, perseverative movements. Amphetamine is also well known to induce a state of pleasurable affect, elation, and euphoria, which can lead to the abuse of the drug. However, d-Amphetamine may also have anxiogenic effects under certain circumstances, inducing cardiac and gastrointestinal effects, as well as disturbances of mood and behavior. (Foree et al., 1973; Thiébot et al., 1991; Lapin, 1993; Killcross et al., 1997; Qiang Lin et al., 1999; Fernando et al., 2013)

If according to our view, amphetamine reduced PTSD-like symptoms by inducing an emotional remodeling of the trauma memory, the opposite effects (increasing PTSD-like symptoms) could be possibly obtained by delivering amphetamine in conditions known to produce anxiogenic effects, such by restricting the locomotor activity after the drug injection.

For that purpose, rats were exposed to a trauma procedure, the single prolonged stress (Le Dorze and Gisquet-Verrier, 2016a), and received, two weeks later, amphetamine, either in anxiogenic (Experiment 1, enclosed in a small cage) or anxiolytic conditions (Experiment 2, circular corridor), before the reactivation of their trauma memory. In both cases, long term-consequences of this remodeling treatment were investigated in a series of PTSD-like symptom tests (Le Dorze and Gisquet-Verrier, 2016a).

## **MATERIAL AND METHODS**

### **1. Animals**

The subjects were 85 male Sprague Dawley rats (42 rats for Experiment 1, 43 rats for Experiment 2) weighing 250–275 g upon arrival, from Harlan Laboratories, France. The rats were housed in pairs under a 12 h light/dark cycle (lights on at 07:30), with food and water available ad libitum. They were habituated to the colony room at least 14 days prior to the start of the experiment, then handled, numbered and weighed. All efforts were made to minimize the number of animals used and their discomfort. All experiments were approved by the ethic committee CEE59 (ethics approval number 2015-07) in accordance with the European Communities Council Directive [2010/63/EU, 22 September 2010].

### **2. Behavioral protocols**

During all the behavioral tests presented below, rats returned to their home cage at the end of the test, and the experimental device was cleaned with a 70% ethanol solution.

#### **2.1. Video tracking system**

A flexible video tracking system (ANY-maze™, Stoelting Co, Wood Dale, USA) was used for automated scoring in the elevated plus maze, light-dark box and reactivity to trauma-associated cues tests. A video camera was placed above or next to the apparatus and the information was relayed to a monitor in an adjoining room to score the behavior in real time. Measures of freezing defined as the absence of all movement, except for respiratory, were made manually, during exposures to trauma-associated cues, with the help of an ethologic key board on ANY-maze. All behavioral tests were done with an experimenter blind to the group conditions. To ensure the reliability of freezing measurement, experimenters were first trained with previous ANY-maze videotapes until their analyses match with the former ones. In addition, the main experimenter regularly checked the measurement through random re-reading of experimental videotapes.

## 2.2. Behavioral characterization

- Circular corridor locomotor activity test: reactivity to a novel environment

Eight circular corridors (Imetronic, Pessac, France) were constructed of black Plexiglas sidewalls and stainless steel running platforms. The outside radius of the inner wall was 32 cm while the inside radius of the outer wall was 60 cm, producing a running corridor of 14 cm (light level around 25 lux inside). Four infrared beams were placed 5 cm above the floor, every 90°. The locomotor activity was counted when animals interrupted two successive beams and thus had travelled a quarter of the circular corridor. The number of quarter turns, recorded via a computer fitted with appropriate software, was determined during a one hour period and used as an index of locomotor activity.

- Anxiety: Elevated plus maze test

The level of anxiety of each rat was determined with the elevated plus maze (EPM) test. The EPM was constructed of black PVC, was 60 cm above the floor and placed in a dimly lit room. Four arms (50 cm long and 11 cm wide, two open and two closed with 50 cm high walls) were arranged in a cross with two arms of the same type facing each other. At the start of the experiment the animal was placed in the center of the maze facing a closed arm and was free to explore the maze in a 5-min period. Eighty per-cent of the animal's full body entering an open (12 lux) or closed arm (2 lux) was considered an entry, while an exit was defined as an entry in another area. The relative percentage of time spent in the open arms,  $(\text{time in the open arms} / (\text{time open arms} + \text{closed arms}) \times 100)$ , was used as an index of anxiety.

- Group determination

At the beginning of each experiment, rats performed an EPM (D-7) and a reactivity to novelty tests (D-6; see Fig.1). Each rat was then classified as "anxious" or "non anxious" depending on whether they were above or below the median anxiety score obtained in the EPM. Rats were then placed in the circular corridors and their locomotor activity was registered for one hour. They were classified as "Low Responder" or "High Responder" depending on whether they were below or above the median locomotor activity score obtained in the reactivity to novelty test. Based on their level of anxiety and of their reactivity to novelty, rats were then divided into different groups matched.

### 2.3. Trauma design

- Inhibitory avoidance task

The inhibitory avoidance took place in a plexiglas chamber (49 x 22 x 21 cm) separated by a sliding door dividing it into two equal size compartments: one black and one white. The floor in the black compartment consisted of metal grids spaced 1.2 cm apart, and the grids were connected to a shock source. A 40 W bulb was suspended above the center of the white compartment.

Each rat was placed in the white compartment for 1.5 min, then the light was turned on and the sliding door separating the two compartments was opened. Once the rat entered the black compartment, the sliding door was closed and two footshock (0,5 s; 0.5 mA) were delivered separated from 5s. Immediately thereafter, rats were exposed to the Single Prolonged Stress. The controls rats were placed in the same conditions but did not receive any shocks. Exposure to the safe white compartment has been shown to be a very effective reminder which predicts the trauma, without being a part of it (see Le Dorze and Gisquet-Verrier, 2016).

- Single Prolonged Stress

Single prolonged stress (SPS) was induced in the presence of additional cues, including a tone (metronome pulsations -120 bpm- present throughout SPS) and an odor (acetophenone -Sigma-Aldrich, 5µl- soaked in a piece of cotton wool placed in proximity to the restriction container), later used as trauma-associated cues. Rats were first restrained for 2 h in a transparent conical Plexiglas restriction container (21 × 7.5 cm) with a hole in the small end of the cone allowing rats to breath. Immediately thereafter, rats were placed for 20 min in a water tank (57.5 cm of depth; 26.5 cm of diameter) filled two-thirds from the bottom with water (26±1 °C) in such a way they were unable to rest by using their tails for support. Each rat was then dried before being placed in a cage (45 cm long x 24 cm wide x 20 cm high) under a lamp for a 15-min rest. Finally, rats were enclosed in a small chamber (19.5 × 14 × 11.5 cm), saturated in CO<sub>2</sub><sup>1</sup> induced by dry ice, until loss of consciousness (about 45–50s). They were then quickly removed and carefully observed until complete recovery, before being returned to their home cage. All steps were done individually. Control rats were exposed to the same cues and apparatus as experimental rats: they were

---

<sup>1</sup> CO<sub>2</sub> was used instead of ether, prohibited by French authorities. As assessed by preliminary experiments, CO<sub>2</sub> exposure alone did not alter symptom tests.

first placed in a cage next to the restraint tube during 2 hours, then on a support (30 cm high, 26 cm diameter) placed in the swimming pool without water. After a 15-min rest in a cage under a lamp, they were enclosed in the CO<sub>2</sub> box without dry-ice.

#### 2.4. Memory remodeling treatment

Two weeks after the trauma procedure (D15), rats were treated by the different conditions:

- Experiment 1
- Controls rats non re-exposed to the predictive box and injected with saline solution = CTRL Sal NR (n=8)
- SPS rats non re-exposed to the predictive box and injected with saline solution = SPS Sal NR (n=8)
- SPS rats re-exposed to the predictive box and injected with saline solution = SPS Sal R (n=8)
- SPS rats non re-exposed to the predictive box and injected with amphetamine solution (1mg/kg) = SPS Amph NR (n=8)
- SPS rats re-exposed to the predictive box and injected with amphetamine solution (1mg/kg) = SPS Amph R (n=10).

For re-exposed rats: they were injected (either Saline, either amphetamine solution), then were placed individually in a new cage during 20 min. Then rats were exposed to the Predictive Box during 1 min before return in the cage for 10 min. Rats then returned to the colony room.

For non re-exposed rats: they stayed in the colony room after the injection (saline or amphetamine).

- Experiment 2
- Control rats injected with saline solution = CTRL Sal R (n=10)
- SPS rats injected with saline solution = SPS Sal R (n=11)
- Control rats injected with amphetamine solution (1mg/kg) = CTRL Amph R (n=11)
- SPS rats injected with amphetamine solution (1mg/kg) = SPS Amph R (n=11).

All rats of this experiment were re-exposed to the Predictive Box. A first session of corridor was performed to habituate rats to the apparatus (60 min, individually). After the injection (saline or amphetamine), rats were assessed to the corridor test during

40 min. They were then exposed to the Predictive Box for 1 min and went back to the corridor for 20 min. Rats then returned to the colony room.

- Exposure to the Predictive Box:

Rats were transported in the SPS room and placed for 1 min in the safe lighted compartment of the inhibitory avoidance which was timely associated with the SPS. During the re-exposure, rats' behavior was recorded and a blind experimenter determined the level of freezing.

## 2.5. Symptoms tests and reactivity to trauma-associated cues

- Anxiety: Elevated plus maze test (already described)

- Anxiety: Light Dark exploration

The device (100 cm x 100 cm) was equally divided into 2 compartments: one brightly lit (60 lux) and the other dark (6 lux). The rat was placed in the dark side and was free to explore the apparatus during a 5-min period. Rats were considered to have entered a compartment when its entire body was in the compartment. The time spent in the light compartment was used as an index of anxiety (the less rats spent time in the lighted compartment, the more anxious they were, Solanki et al., 2015).

- Exposure to a new context

Rats were transported in a neutral room and placed for 90s in a new cage. The Freezing responses were analyzed.

- CO<sub>2</sub> box exposure

Rats were placed for 90s in the CO<sub>2</sub> box used for the SPS day (19.5 × 14 × 11.5 cm), placed in a dimly lit room (15 lux) and their freezing behavior was recorded.

- Trauma-associated tone exposure

Rats were transported in a neutral room and placed for 90s in a new box without any tone. Immediately after, the trauma-associated tone was delivered during a new 90s-period of time.

During all cue re-exposures, rats' behavior was recorded and a blind experimenter determined the level of freezing.

## **4. Statistical analyses**

Statistical analyses were performed with standard ANOVAs, using VAR3 software (Rouanet et al., 1990), allowing subsequent planned comparisons, in case of significant main effects and interactions. For experiment 1, differences among the different groups were done with one-way ANOVAs. A Two-way ANOVAs was used for the Predictive Box exposures (with Repetition as a second factor). For experiment 2, two-way ANOVAs were used with Trauma (CTRL or SPS) and Injection conditions (Saline or Amphetamine) as between groups factors.

## RESULTS

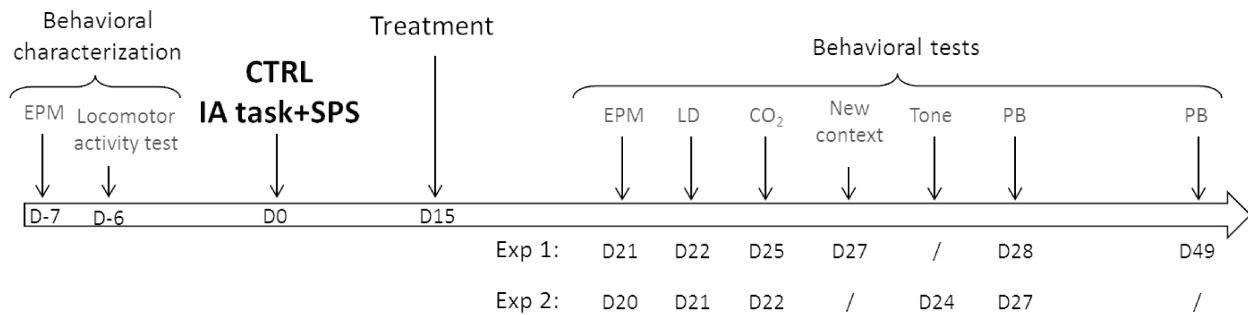
### 1. Experiment 1: increasing some PTSD-like symptoms

In this Experiment, rats treated with amphetamine were enclosed in a small cage for 20 min before the reactivation and for 10 min after the reactivation.

Rats were first behaviorally characterized on their level of anxiety and of locomotor activities and separated in 5 experimental groups on the basis of these results. Four groups were then exposed to the SPS, while one received a control procedure (D0). Two weeks later (D15; see Fig.1), all groups received an injection with Saline or Amphetamine 20 min before being re-exposed (R) or not (NR) to the safe box of the inhibitory avoidance, known to be an effective reminder cue (Pynoos et al., 1996; Le Dorze and Gisquet-Verrier, 2016b). In all five different groups were considered: A control group (CTRL, n=8) injected with saline and non re-exposed to the predictive cue and four SPS groups: SPS-Sal-NR (n=8), SPS-Sal-R (n=8); SPS-Amph-NR (n=8) and SPS-Amph-R (n=10). These groups were then tested for different PTSD-like symptoms and for their reactivity to trauma associated cues.



## A) General protocol



## B) Treatment day

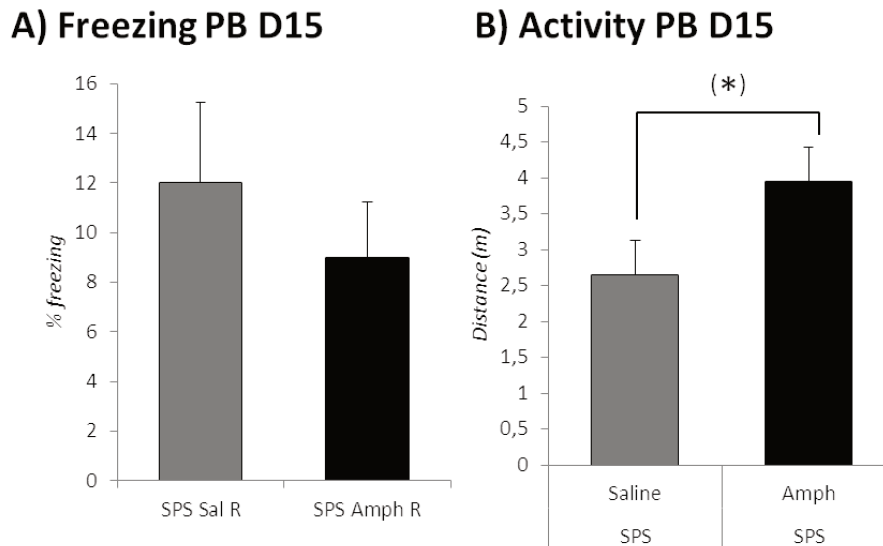
	Habituation	Injection	Pre- reactivation	Reactivation (Predictive Box)	Post- reactivation	Groups
<b>Exp 1</b> <b>Aversive condition</b>	/	- Saline - Amph	20 min (cage)	- 1 min - not react.	10 min (cage)	- CTRL Sal NR (n=8) - SPS Sal NR (n=8) - SPS Sal R (n=8) - SPS Amph NR (n=8) - SPS Amph R (n=10)
<b>Exp 2</b> <b>Positive condition</b>	60 min (corridor)	- Saline - Amph	40 min (corridor)	1 min	20 min (corridor)	- CTRL Sal R (n=10) - SPS Sal R (n=11) - CTRL Amph R (n=11) - SPS Amph R (n=11)

**Figure 1: Scheduling for the two experiments**

**A) Timeline of general protocol:** rats received a Single Prolonged Stress (SPS) at Day 0, or a control procedure (CTRL). At D15, they received the remodeling treatment. Behavioral tests were performed from D20 to D49. PTSD-like symptoms tests were investigated with an Elevated Plus Maze (EPM), a Light-Dark box (LD) and the exposure to a new context. Reactivity to trauma-associated cues was investigated with the CO<sub>2</sub> box, the tone, and the Predictive box (PB) exposure. **B) Treatment day:** table explaining the scheduling and differences between the two experiments with the different groups used in each experiment.

### 1.1. Exposure to the reminder

Percent of freezing developed by SPS rats while they were exposed to the predictive box were somehow weaker in rats under amphetamine than in saline rats (Fig.2A). However, the difference did not reach a significant level. Concerning the locomotor activity developed during this period of time (Fig.2B), analyses indicated that SPS-Amph-R rats tended to travel more distance than SPS-Sal-R ( $F(1,16)=3.51$ ,  $p=0.076$ ).



**Figure 2: Experiment 1 - Exposure to the Predictive box at Day 15**

**A) Freezing during PB exposure:** mean amount of freezing during a 60-sec period with the guillotine door closed. **B) Activity developed during PB exposure:** distance travelled (m) during a 60-sec period of time. Data are expressed as mean  $\pm$  standard error of the mean (SEM).

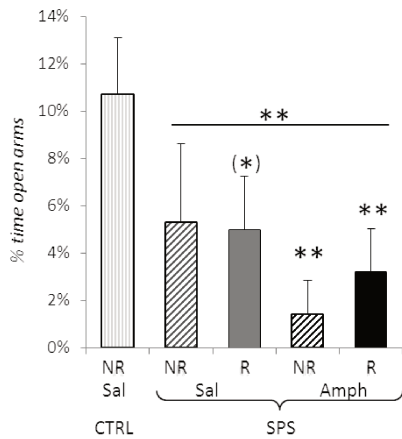
## 1.2. Symptoms tests showing no treatment effects

- **Anxiety: Elevated Plus Maze (EPM-D21, Fig.3A)**

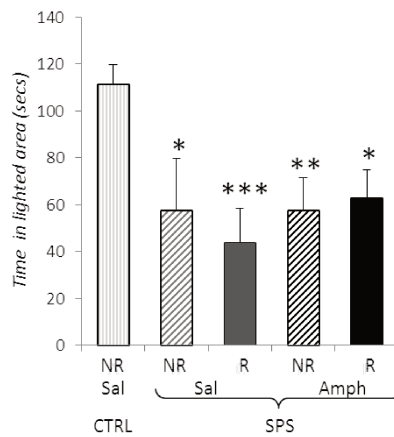
An ANOVA performed on percent of the time spent in open arms of the EPM revealed a Group effect ( $F(4-37)=2.97$ ,  $p=0.03$ ). Although SPS saline groups appeared more anxious than the CTRL, the difference did not reach a significant level (SPS-Sal-NR:  $F(1-14)=2.35$ ,  $p=0.14$ ; SPS-Sal-R:  $F(1-14)=4.08$ ,  $p=0.06$ ). However, after an amphetamine injection, SPS rats significantly differed from with CTRL rats whether they were reactivated or not (SPS-Amph-NR:  $F(1-14)=14.94$ ,  $p=0.001$  and SPS Amph R:  $F(1-16)=8.51$ ,  $p=0.009$ ).

*This result suggested that amphetamine strengthened the anxiety of SPS rats.*

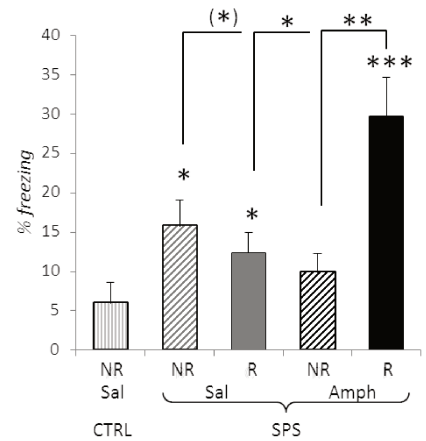
### A) EPM - D21



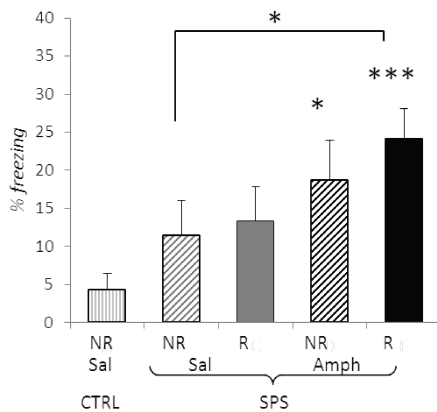
### B) LD - D22



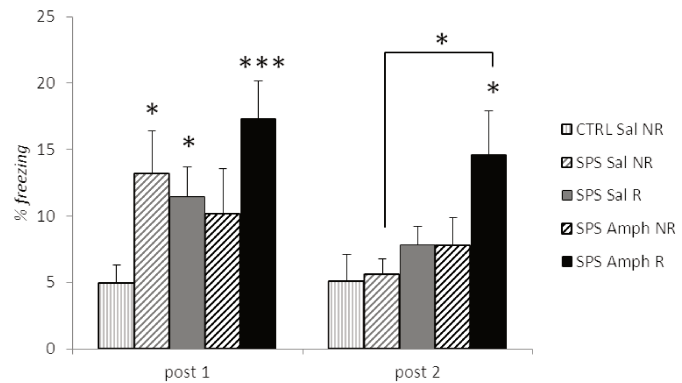
### C) CO<sub>2</sub> - D25



### D) New context - D27



### E) Freezing PB D28, D49



## Figure 3: Experiment 1 – Behavioral tests

**A) Elevated Plus Maze (EPM), performed at Day 21:** percentage of time spent in open arms, during a 5-min period. **B) Light-Dark (LD) test performed at Day 22:** mean time spent in the light compartment (secs) during a 5-min period. **C) Exposure to the CO<sub>2</sub> box at Day 25:** mean amount of freezing during a 90-sec period. **D) Exposure to a new context at Day 27:** mean amount of freezing during a 90-sec period. **E) Exposure to the Predictive box at Day 28 and 49:** mean amount of freezing during a 60-sec period with the guillotine door closed.

Data are expressed as mean  $\pm$  standard error of the mean (SEM). \*.05>p>.01; \*\*.01>p>.001, \*\*\*p<.001= different from CTRL.

- **Anxiety: Light-Dark (LD-D22, Fig.3B)**

A one-way ANOVA performed on the time spent in the light area of the LD revealed a Group effect ( $F(4-37)=3.10$ ,  $p=0.026$ ), each SPS groups being statistically different from the CTRL group (SPS-Sal-NR:  $F(1-14)=6.55$ ,  $p=0.021$ ; SPS-Sal-R:  $F(1-$

14)=22.03,  $p < .001$ ; SPS-Amph-NR:  $F(1-14)=11.99$ ,  $p=0.003$ ; SPS-Amph-NR:  $F(1-16)=7.07$ ,  $p=0.016$ ).

*SPS groups appeared more anxious than the control group, but the treatment did not seem to affect this test.*

- **CO<sub>2</sub> box exposure:** (D25, Fig.3C)

ANOVA performed on the percent of freezing during the exposure to the CO<sub>2</sub> box revealed a Group effect ( $F(4-37)=6.39$ ,  $p < .001$ ), with three SPS groups being significantly different from the CTRL (SPS-Sal-NR:  $F(1-14)=6.37$ ,  $p=0.023$ , SPS-Sal-R:  $F(1-14)=4.52$ ,  $p=0.04$ ; SPS-Amph-R:  $F(1-14)=13.99$ ,  $p=.001$ ). In addition, planned comparisons indicated that SPS-Amph-R rats demonstrated higher level of freezing than each of the other SPS groups (SPS-Sal-NR:  $F(1-16)=3.92$ ,  $p=0.06$ ; SPS-Sal-R:  $F(1-16)=6.63$ ,  $p=0.019$ ; SPS-Amph-NR:  $F(1-16)=8.78$ ,  $p=0.008$ ).

*Reminded SPS rats treated with amphetamine exhibited more fear responses to trauma-associated cues than any other groups of rats.*

- **New context exposure:** (D27, Fig.3D)

When placed in a new environment, traumatized rats developed more freezing than CTRL rats which showed nearly no fear reaction (5% of freezing). An ANOVA on these results indicated a Group effect ( $F(4-37)=3.31$ ,  $p=0.02$ ), but the difference between the CTRL group and the SPS Saline groups did not reach a significant level (SPS-Sal-NR:  $F(1-14)=3.34$ ,  $p=0.085$ ; SPS-Sal-R:  $F(1-14)=3.28$ ,  $p=0.082$ ). However, SPS rats treated with amphetamine exhibited larger level of freezing than the CTRL rats (SPS-Amph-NR:  $F(1-14)=6.11$ ,  $p=0.025$ ; SPS-Amph-R  $F(1-16)=17.10$ ,  $p < .001$ ) and SPS rats treated with amphetamine were more fearful than the non reminded SPS rats treated with saline (SPS-Sal-NR:  $F(1-16)=4.54$ ,  $p=0.046$ ). The difference with the SPS-Sal-R even did not reach a significant level ( $F(1-16)=3.31$ ,  $p=0.084$ ).

*SPS rats treated with amphetamine exhibited more fear responses to a new context than saline rats. This effect was somehow exacerbated when rats were reminded.*

- **Predictive box:** (D28, D49, Fig.3E)

The exposure to the Predictive box was conducted 2 times, at D28 and D49. A two way-ANOVA performed on the percent of freezing indicated a Group effect ( $F(4-$

37)=4.60,  $p=0.004$ ), with a Repetition effect  $F(1-37)=4.9$ ,  $p=0.031$ ), and no interaction between these two factors ( $F<1$ ). At D28, there was a significant Group effect ( $F(4-37)=3.09$ ,  $p=0.027$ ), with significant differences between the CTRL group and the SPS-Sal-NR ( $F(1-14)=6.20$ ,  $p=0.024$ ), the SPS-Sal-R ( $F(1-14)=7.12$ ,  $p=0.017$ ) and SPS-Amph-R ( $F(1-16)=14.16$ ,  $p=0.001$ ) groups. At D49, a Group effect was also obtained ( $F(4-37)=3.11$ ,  $p=0.026$ ) but at that time only the SPS-Amph-R group significantly differed from CTRL ( $F(1-16)=5.44$ ,  $p=0.031$ ), as well as from the SPS-Sal-NR rats ( $F(1-16)=5.59$ ,  $p=0.029$ ).

*Reminded SPS rats treated with amphetamine exhibited more fear responses to the predictive cue than the other SPS groups.*

*In Experiment 1, amphetamine increased several PTSD-like trauma such as the reactivity to trauma-associated cues.*

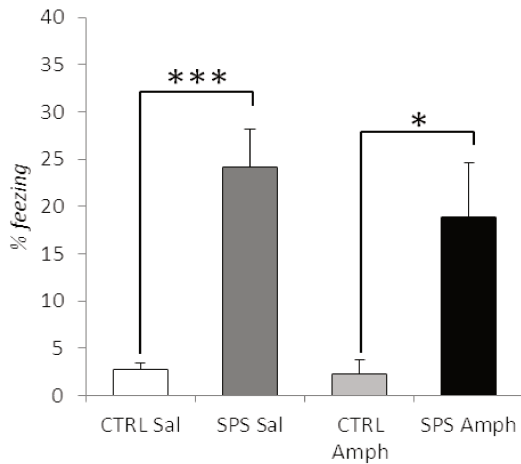
## **2. Experiment 2: decreasing some PTSD-like symptoms**

In this experiment, rats treated either with amphetamine or saline were placed in the circular corridor for 40 min before and 20 min after the reactivation. Rats were first behaviorally characterized on their level of anxiety and of locomotor activities and separated in 4 experimental groups on the basis of these results. Half of them were exposed to the SPS procedure, while the remaining ones were exposed to the control procedure. At Day 15, all rats received their treatments. They received a Saline or an Amphetamine injection before being placed for 40 min in the circular corridor. Rats were then exposed for one min to the predictive box before being replaced in the circular corridor for an additional 20 min period. In all, four groups were considered: CTRL-SalR ( $n=10$ ), SPS-SalR ( $n=11$ ), CTRL-AmphR ( $n=11$ ) and SPS-AmphR ( $n=11$ ).

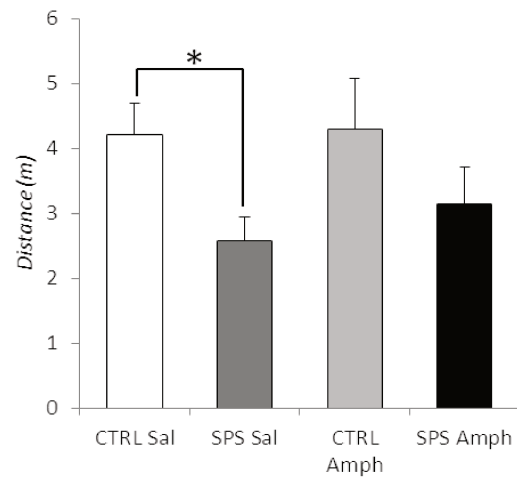
### **1.1. Exposure to the reminder**

A two-way ANOVA performed on the percent of freezing developed by rats during the predictive box exposure (Fig.4A) indicated a Trauma effect (SPS vs CTRL,  $F(1-39)=26.95$ ,  $p<.001$ ), with no Injection effect (Sal vs Amph,  $F<1$ ) and no interaction ( $F<1$ ). Planned comparison indicated a Trauma effect for Saline ( $F(1-19)=25.94$ ,  $p<.001$ ) and for Amphetamine ( $F(1-20)=7.86$ ,  $p=0.01$ ).

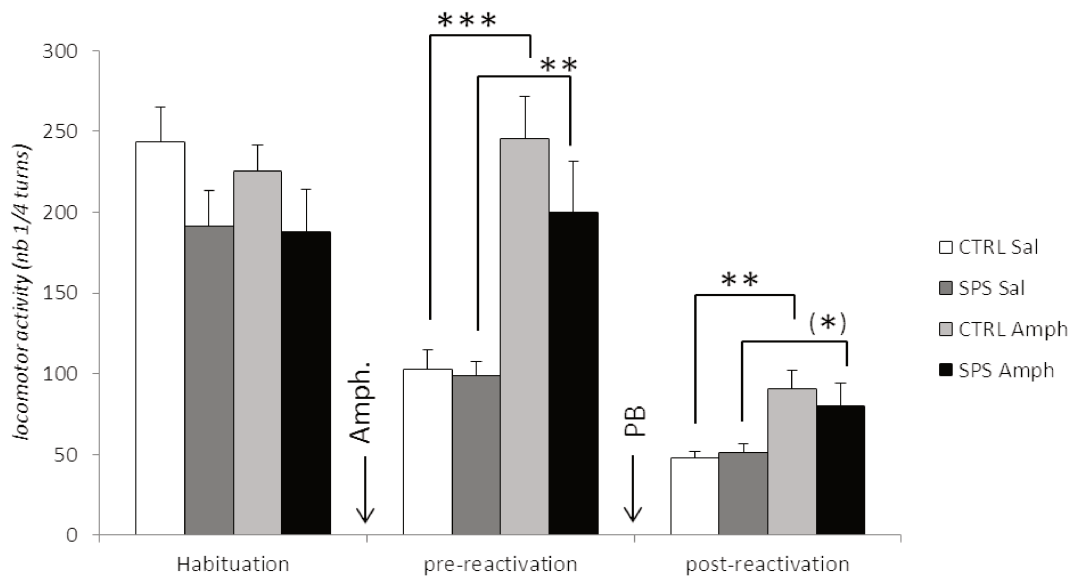
### A) Freezing PB D15



### B) Activity PB D15



### C) Locomotor activity D15



**Figure 4: Experiment 2 - Exposure to the Predictive box at Day 15**

**A) Freezing during PB exposure:** mean amount of freezing during a 60-sec period with the guillotine door closed. **B) Activity developed during PB exposure:** distance travelled (m) during a 60-sec period of time. **C) Locomotor activity developed in the circular corridor:** number of 1/4 turns developed during habituation (60 min), the pre-reaktivation (40 min), and the post-reaktivation (20 min) period. Data are expressed as mean  $\pm$  standard error of the mean (SEM).  $.05 > p > .01$ ;  $.01 > p > .001$ ,  $***p < .001$  = different from CTRL.

Concerning the locomotor activity developed during this period of time (Fig.4B), the two-way ANOVA revealed a Trauma effect ( $F(1-39)=5.89$ ,  $p=0.018$ ), no Injection effect ( $F < 1$ ), and no interaction between these two factors ( $F < 1$ ). Planned

comparison indicated that the Trauma effect was present only for Saline groups ( $F(1-19)=7.53$ ,  $p=0.012$ ), but not for amphetamine groups ( $F(1-20)=1.41$ ,  $p=0.24$ ).

The locomotor activity developed on the circular corridor before and after this PB exposure was presented on Fig.4C. Analyses performed before and after the cue exposure revealed no Trauma effect ( $F(1-39)=1.28$ ,  $p=0.26$ ; and  $F<1$  resp.), a Injection effect ( $F(1-39)=30.63$ ,  $p<.001$ ; and  $F(1-39)=13.05$ ,  $p<.001$  resp.), with no interaction between these two factors ( $F_s<1$ ). Planned comparisons indicated that the Injection effect was obtained for CTRL ( $F(1-19)=23.26$ ,  $p<.001$ , and  $F(1-19)=11.46$ ,  $p=0.003$ , resp.) and SPS ( $F(1-20)=9.73$ ,  $p=0.005$ , and  $F(1-20)=3.62$ ,  $p=0.06$ ).

### 1.1. Symptoms tests showing no treatment effects

- **Anxiety: Elevated Plus Maze (EPM-D20, Fig.5A)**

A two-way ANOVA performed on percent of the time spent in open arms of the EPM revealed a Trauma effect ( $F(1-39)=8.04$ ,  $p=0.007$ ), but no Injection effect ( $F<1$ ) and no interaction between these two factors ( $F<1$ ). Planned comparisons further indicated that for the Saline treatment, CTRL rats were statistically different from SPS rats ( $F(1-19)=5.32$ ,  $p=0.03$ ). The same tendency was obtained for the Amphetamine treatment but the difference did not reach a significant level ( $F(1-20)=2.97$ ,  $p=0.08$ ).

*Anxiety was weakened in rats treated with amphetamine.*

- **Anxiety: Light-Dark (LD-D21, Fig.5B)**

A two-way ANOVA performed on the latency to enter the light area of the LD revealed a Trauma effect ( $F(1-39)=4.22$ ,  $p=0.04$ ), no Injection effect ( $F(1-39)=2.69$ ,  $p=0.1$ ), with no significant interaction between these two factors ( $F<1$ ). Complementary analyses indicated that SPS differed from CTRL rats when treated with Saline ( $F(1-19)=4.01$ ,  $p=0.05$ ), while they no longer differ when treated with Amphetamine ( $F<1$ ).

*Amphetamine decreased anxiety on SPS rats.*

- **CO<sub>2</sub> box exposure: (D22, Fig.5C)**

A two-way ANOVA performed on percent of freezing during the CO<sub>2</sub> box exposure revealed a Trauma effect ( $F(1-39)=19.01$ ,  $p<.001$ ), with no Injection effect ( $F<1$ ) and no interaction between these two factors ( $F<1$ ). Planned comparisons further

indicated that SPS group was statistically different from CTRL for the two Injection conditions ( $F(1-19)=11.45$ ,  $p=0.003$ ,  $F(1-20)=8.91$ ,  $p=0.007$  respectively for Saline and Amphetamine). However, it must be noted that while SPS-Sal-R and SPS-Amph-R largely differed in Experiment 1, they performed similarly in this experiment ( $F<1$ ).

*SPS groups expressed more freezing than the control group, but the treatment did not seem to affect this test.*

- **Tone exposure** (D24, Fig.5D)

This test was performed in two parts: a first part without any tone, immediately followed by the second part with the tone presentation. A three-way ANOVA performed on the percentage of freezing during the entire test revealed a Trauma effect ( $F(1-39)=5.08$ ,  $p=0.028$ ), with a Part effect ( $F(1-39)=40.97$ ,  $p<.001$ ), no Injection effect ( $F<1$ ), and an interaction between Trauma and Part that fell short of significance ( $F(1-39)=3.64$ ,  $p=0.06$ ). There was no Trauma effect in the absence of tone ( $F<1$ ). During the tone exposure (Group effect:  $F(1-39)=5.28$ ,  $p=0.02$ ), increases in freezing were obtained for SPS rats treated with saline ( $F(1-19)=5.29$ ,  $p=0.031$ ), but were not observed for SPS rats treated with amphetamine ( $F<1$ ).

*The results suggest that amphetamine reduced the fear-response to the trauma-associated tone in traumatized rats.*

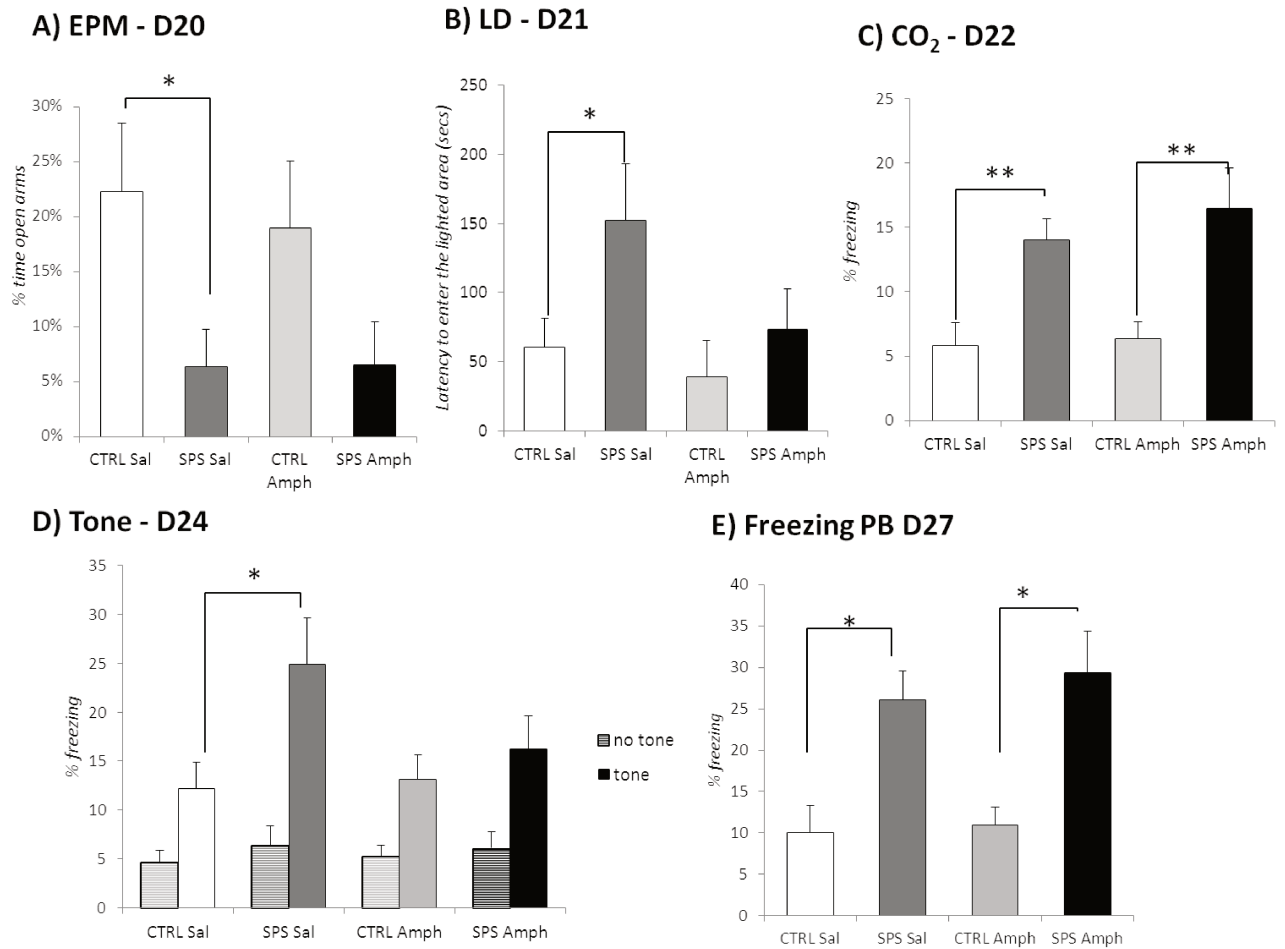
- **Predictive box:** (D27, Fig.5E)

Concerning the Predictive box (D27), two-way ANOVA revealed a Trauma effect ( $F(1-39)=14.65$ ,  $p<.001$ ), no Injection effect ( $F<1$ ), and no interaction between these two factors ( $F<1$ ). Planned comparisons indicated a Trauma effect for Saline ( $F(1-19)=6.43$ ,  $p=0.019$ ), as well as for Amphetamine ( $F(1-20)=8.0$ ,  $p=0.01$ ).

*SPS groups expressed more freezing than the control group, but the treatment did not seem to affect this test.*

*In Experiment 2, amphetamine decreased several PTSD-like trauma such as anxiety, and the reactivity to the trauma-associated tone.*





**Figure 5: Experiment 2 – Behavioral tests**

**A) Elevated Plus Maze (EPM), performed at Day 20:** percentage of time spent in open arms, during a 5-min period. **B) Light-Dark (LD) test performed at Day 21:** mean time spent in the light compartment (secs) during a 5-min period. **C) Exposure to the CO<sub>2</sub> box at Day 22:** mean amount of freezing during a 90-sec period. **D) Exposure to the tone at Day 24:** mean amount of freezing during two 90-sec period, without tone and then with the presentation of the trauma-associated tone. **E) Exposure to the Predictive box at Day 27:** mean amount of freezing during a 60-sec period with the guillotine door closed.

Data are expressed as mean  $\pm$  standard error of the mean (SEM). \*.05>p>.01; \*\*.01>p>.001, \*\*\*p<.001.

## DISCUSSION

In the present study, we show that the same pharmacological treatment, an amphetamine injection (1mg/kg, ip) delivered before the reactivation of a trauma memory, can either strengthen or weaken PTSD-like symptoms depending on the conditions used to deliver it. The treatment was delivered two weeks after the SPS. After the amphetamine injection, and again after the exposure to the trauma reminder, rats were either enclosed in a small cage (Experiment 1) or in the circular corridor (Experiment 2). During the 1 min exposure to the predictive box, traumatized rats under amphetamine tended to show less freezing and more activity than the traumatized rats treated with saline but the differences were not significant. The lack of difference during the cue exposure is certainly due to its short duration (1 min). Activity scores obtained in the circular corridor indicated that amphetamine largely increased the locomotor activity (Fig.4C). However, traumatized rats exhibited less motor activity than the control rats after the amphetamine injection, indicating that the trauma induced a behavioral desensitization, confirming previous results in similar conditions (Toledano et al., 2013; Le Dorze et al. in prep). In Experiment 1, SPS rats exhibited more anxiety than the control group. The difference was somehow enhanced for the two amphetamine groups. SPS increased the percent of freezing observed when rats were exposed to the CO<sub>2</sub> box, to a new context and to the predictive box. These effects were strengthened for the amphetamine treated rats. These results indicated that traumatized rats treated with amphetamine (SPS-Amph-R) and confined in the small cage presented stronger PTSD-like symptoms than non-treated traumatized rats, suggesting that under these conditions, amphetamine strengthened trauma consequences. In Experiment 2, SPS rats exhibited more anxiety (EPM) and more freezing to the CO<sub>2</sub> and the predictive box. However, rats treated with amphetamine (SPS-Amph-R) exhibited less anxiety when tested in the Light-Dark test and no longer reacted to the trauma associated tone, indicating that when rats are free to express their hyperactivity, the combination of the amphetamine treatment with the reactivation decreased the long term trauma consequences, confirming our previous results (Toledano and Gisquet-Verrier, 2014).

### **Action of amphetamine**

Amphetamine is a sympathomimetic drug, producing its effects by increasing synaptic levels of the biogenic amines, dopamine, norepinephrine and serotonin,

through multiple mechanisms. Amphetamines readily cross the blood-brain barrier to reach their primary sites of action in the brain. The acute administration of amphetamine produces a wide range of dose-dependent behavioral changes, including increased arousal and hyperactivity, and at doses that increase locomotor activity, amphetamine has an anxiolytic-like effect. Amphetamine is also well known to induce pleasurable affects, an effect that possibly relay by secondarily increases levels of oxytocin, a neuropeptide playing a role in multiple psychological effects, influencing social behavior and emotion (Lim and Young, 2006). However, amphetamine may also have anxiogenic effects under certain circumstances (Foree et al., 1973; Thiébot et al., 1991; Killcross et al., 1997). Here the amphetamine treatment included an amphetamine injection followed by the reactivation of the memory. The present results indicate that this treatment can lead to opposite consequences. When rats were confined in a small cage after the drug injection, the amphetamine treatment tended to increase PTSD-like symptoms, while when rats were placed in the corridors, the same treatment decreased PTSD-like symptoms. Since the main difference between the two experiments is the location where the rats have been placed after the amphetamine injection, our results suggest that amphetamine treatment may have opposite outcomes depending on their conditions of injection. In experiment 1, rats were placed in a small plastic cage while in experiment 2, they were placed in the circular corridor. Amphetamine is well known to increase the locomotor activity, as confirmed by the present results obtained in amphetamine treated rats when placed in the circular corridor (Fig.4C). Preventing the possibility to express this hyperactivity may create anxiety and discomfort, reversing the effect of the treatment from a positive to a negative effect.

### **Amphetamine and memory consolidation/reconsolidation**

Psychostimulants and more specifically amphetamine have been shown to enhance consolidation in a variety of learning tasks (McGaugh and Petrinovich, 1965). Systemic injections of AMPH have been shown to enhance the consolidation of aversive tasks such as conditioned taste aversion (Fenu and Di Chiara, 2003) and various types of avoidance learning (Doty and Doty, 1966; Haycock et al., 1977; Martinez et al., 1980). Systemic injections of AMPH also enhance the consolidation of spatial learning (Packard and White, 1989), visual discrimination learning (Krivanek and McGaugh, 1969), and appetitive conditioning (Oscos et al., 1988;

Simon and Setlow, 2006). In humans, amphetamine has also been shown to enhance the consolidation of verbal learning (Soetens et al., 1993, 1995). While amphetamine consistently enhances a wide variety of memory types, there has been little investigation of whether any memory can be positively modulated (rather than impaired) during the post-reactivation period. A single study indicates this possibility showing an enhancement of morphine conditioned place preference after a post-reactivation administration of amphetamine (Blaiss and Janak, 2006). However, it seems that all types of behavior do not seem to be vulnerable to post-reactivation amphetamine treatment (Blaiss and Janak, 2007).

In all these experiments, it is hypothesized that post-training and post-reactivation administration of amphetamine is able to affect memories by strengthening a process of stabilization/re-stabilization (termed consolidation/reconsolidation) suspected to occur after training/memory reactivation and to be required for maintenance of the memory (Wiig et al., 2009). Such an explanation is unable to account for the present results for two main reasons. First because in the present study, the treatment was not delivered after the reactivation, but before the treatment (20 to 40 min). Hence the effects of the treatment seem to be more related to the state induced by the treatment at the time of reactivation rather than to the processes taking place after the reactivation. Second, we showed that the same amphetamine treatment delivered at the same doses, had opposite effects, strengthening or weakening the reactivated memory. Up to now, treatments supposed to affect consolidation/reconsolidation have been found to have either an effect or an absence of effect which are generally interpreted as the demonstration that a particular process is involved or not in the consolidation/reconsolidation process required for the studied conditions. To our knowledge, there is no case where a treatment, supposed to affect a time-dependent process, has been shown to have either a pro-mnesic or an amnesic effect. All these elements lead us to consider that in our conditions, the effects induced by the amphetamine treatment cannot be explained by an effect of amphetamine on reconsolidation processes.

### **Amphetamine and memory integration**

There is accumulating evidence indicating that memory reactivation places the memory trace in an active state, similar to the one reached just after training (Lewis, 1979), during which memories are malleable. It has been shown that active memory

can integrate new information, an essential aspect required for updating processes (Gisquet-Verrier and Riccio, 2012). Several studies indicate that new contexts (apparatus or room) presented during memory reactivation become part of the reactivated memory, preventing the disruptive effect resulting from a contextual change between training and testing (Gordon, 1981; Briggs and Riccio, 2008). More recently we showed that a novel internal context provided by lithium chloride delivered before memory reactivation was integrated within an inhibitory avoidance memory. In the same study, we provided evidence indicating that an amnesic treatment (cycloheximide) delivered just after training or memory reactivation was integrated in fact integrated within the active memory and that the disruption of performance resulted from a contextual rather than from a disruption of the consolidation process (Gisquet-Verrier et al., 2015). Based on these results we formulated the hypothesis that if we were able to introduce new contextual information, we should also be able to introduce new emotional information. We recently showed that an amphetamine injection delivered while traumatized rats were placed back in the trauma context was able to abolish most of the PTSD-like symptoms. We proposed that these results were possibly due to the integration of the positive state induced by amphetamine within the trauma memory. Such an emotional remodeling of the trauma memory could account for decrease of the trauma consequences. To support the emotional remodeling view, it was important to find a situation where the emotional content could possibly be increased or decreased. The present experiment constitutes the first demonstration that a new emotional information can be integrated within a memory and durably modify the emotional valence of a memory.

### **Amphetamine for an emotional remodeling of a trauma memory**

Anecdotal clinical experience suggests that, for individuals with PTSD and cognitive complaints, amphetamine, delivered for other purpose, can produce clinical benefit without problematic exacerbations in anxiety (see Daly, 2000). In a recent clinical study, methylphenidate treatment was associated with meaningful improvement on post-traumatic stress symptoms and cognitive complaints, and a possible effect of amphetamine on extinction processes was suggested (McAllister et al., 2016). Amphetamine narcosis associating barbiturates and amphetamine, has been shown to induce a catharsis during which the patients were able to retrieve their trauma

memories (Delay, 1949; Crocq, 1999). Various types of amphetamine and particularly the methylenedioxy metamphetamine (MDMA) or ecstasy, have frequently been used with success, as an adjunct for psychotherapy in the 80s (see Parrott, 2007 for a review). Interestingly, these therapies which have been shown to be effective even after a single drug treatment, always used the drug delivery before the cognitive therapy session in order to induce a positive state while the subjects were required to reactivate their trauma memory. Up to now, the potential mechanism(s) underlying the symptom improvement observed in these studies remains unclear. We propose that these effects rely on an emotional remodeling of the traumatic memory. The basis of the treatment is to combine a pharmacological treatment inducing a positive mood with the reactivation of the pathological memory, in order to use the malleability of reactivated memory to introduce reduce emotional information within this memory.

However, we acknowledge that the present study has a main limitation before being able to apply an amphetamine-based remodeling treatment on PTSD patients. The present results report long term effects that might appear too restricted. However, two major changes have been introduced in our ongoing experiments. First the number of treatment sessions has been increased and include repeated associations between drug treatment and cue re-exposures, using different trauma reminders. Second, amphetamine has been substituted by other drug treatments inducing more positive effects than the amphetamine.

## ACKNOWLEDGMENTS

Funding: Claire Le Dorze was supported by a DGA-MRIS (Direction Générale de l'Armement) scholarship. We are very grateful to Prof. DC. Riccio for the correction of the English text. We thank Aurélie Bonilla, Céline Dubois and Fabien Lhéricel for the animal care.

## CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

## Bibliographie

- Berman SM, Kuczenski R, McCracken JT, London ED. 2009. Potential adverse effects of amphetamine treatment on brain and behavior: a review. *Mol Psychiatry* 14:123–42.
- Blaiss CA, Janak PH. 2006. Post-training and post-reactivation administration of amphetamine enhances morphine conditioned place preference. *Behav Brain Res* 171:329–37.
- Blaiss CA, Janak PH. 2007. Post-training, but not post-reactivation, administration of amphetamine and anisomycin modulates Pavlovian conditioned approach. *Neurobiol Learn Mem* 87:644–658.
- Briggs JF, Fitz KI, Riccio DC. 2007. Transfer of memory retrieval cues in rats. *Psychon Bull Rev* 14:495–9.
- Briggs JF, Riccio DC. 2008. Transfer of Old “Reactivated” Memory Retrieval Cues in Rats. *Learn Motiv* 39:13–23.
- Crocq L. 1999. *Traumatismes psychiques de guerre (Les)*. Odile Jaco.
- Daly OE. 2000. The use of stimulants in the treatment of post traumatic stress disorder: case report. *Hum Psychopharmacol* 15:295–300.
- Delay J. 1949. Sur les explorations pharmacodynamiques en psychiatrie: narco-analyse et choc amphotaminique. *Proc R Soc Med* 42:491–496.
- Le Dorze C, Gisquet-Verrier P. 2016a. Sensitivity to trauma-associated cues is restricted to vulnerable traumatized rats and reinstated after extinction by yohimbine. *Behav Brain Res* 313:120–134.

- Le Dorze C, Gisquet-Verrier P. 2016b. Effects of multiple brief exposures to trauma-associated cues on traumatized resilient and vulnerable rats. *Brain Res.*
- Doty BA, Doty LA. 1966. Facilitative effects of amphetamine on avoidance conditioning in relation to age and problem difficulty. *Psychopharmacologia* 9:234–41.
- Fenu S, Di Chiara G. 2003. Facilitation of conditioned taste aversion learning by systemic amphetamine: role of nucleus accumbens shell dopamine D1 receptors. *Eur J Neurosci* 18:2025–30.
- Fernando ABP, Urcelay GP, Mar AC, Dickinson A, Robbins TW. 2013. Comparison of the conditioned reinforcing properties of a safety signal and appetitive stimulus: effects of d-amphetamine and anxiolytics. *Psychopharmacology (Berl)* 227:195–208.
- Foree DD, Moretz FH, McMillan DE. 1973. Drugs and punished responding. II. d-Amphetamine-induced increases in punished responding. *J Exp Anal Behav* 20:291–300.
- Gisquet-Verrier P, Lynch JF, Cutolo P, Toledano D, Ulmen A, Jasnow AM, Riccio DC. 2015. Integration of New Information with Active Memory Accounts for Retrograde Amnesia: A Challenge to the Consolidation/Reconsolidation Hypothesis? *J Neurosci* 35:11623–11633.
- Gisquet-Verrier P, Riccio DC. 2012. Memory reactivation effects independent of reconsolidation. *Learn Mem* 19:401–409.
- Gordon W. 1981. Mechanisms of cue-induced retention enhancement. *Process Anim Mem Mech.*
- Haycock JW, Van Buskirk R, Gold PE. 1977. Effects on retention of posttraining amphetamine injections in mice: interaction with pretraining experience. *Psychopharmacology (Berl)* 54:21–4.
- Killcross AS, Everitt BJ, Robbins TW. 1997. Symmetrical effects of amphetamine and alpha-flupenthixol on conditioned punishment and conditioned reinforcement: contrasts with midazolam. *Psychopharmacology (Berl)* 129:141–52.
- Krivanek JA, McGaugh JL. 1969. Facilitating effects of pre- and posttrial amphetamine administration on discrimination learning in mice. *Agents Actions* 1:36–42.
- Lapin IP. 1993. Anxiogenic effect of phenylethylamine and amphetamine in the elevated plus-maze in mice and its attenuation by ethanol.



- Lee JLC. 2010. Memory reconsolidation mediates the updating of hippocampal memory content. *Front Behav Neurosci* 4:168.
- Lewis DJ. 1979. Psychobiology of active and inactive memory. *Psychol Bull* 86:1054–1083.
- Lim MM, Young LJ. 2006. Neuropeptidergic regulation of affiliative behavior and social bonding in animals. *Horm Behav* 50:506–517.
- Martinez JL, Jensen RA, Messing RB, Vasquez BJ, Soumireu-Mourat B, Geddes D, Liang KC, McGaugh JL. 1980. Central and peripheral actions of amphetamine on memory storage. *Brain Res* 182:157–66.
- McAllister T, Zafonte R, Jain S, Flashman L. 2016. Randomized placebo-controlled trial of methylphenidate or galantamine for persistent emotional and cognitive symptoms associated with PTSD and/or traumatic brain.
- McGaugh JL, Petrinovich LF. 1965. Effects of drugs on learning and memory. *Int Rev Neurobiol* 8:139–96.
- Oscos A, Martinez JL, McGaugh JL. 1988. Effects of post-training d-amphetamine on acquisition of an appetitive autoshaped lever press response in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 95:132–4.
- Packard MG, White NM. 1989. Memory facilitation produced by dopamine agonists: role of receptor subtype and mnemonic requirements. *Pharmacol Biochem Behav* 33:511–8.
- Parrott a C. 2007. The psychotherapeutic potential of MDMA (3,4-methylenedioxymethamphetamine): an evidence-based review. *Psychopharmacology (Berl)* 191:181–193.
- Pynoos RS, Ritzmann RF, Steinberg a M, Goenjian a, Prisecaru I. 1996. A behavioral animal model of posttraumatic stress disorder featuring repeated exposure to situational reminders. *Biol Psychiatry* 39:129–34.
- Qiang Lin H, Burden PM, Christie MJ, R Johnston GA, Burden PM, Christie MJ, R Johnston GA. 1999. The Anxiogenic-Like and Anxiolytic-Like Effects of MDMA on Mice in the Elevated Plus-Maze: A Comparison With Amphetamine. *Pharmacol Biochem Behav* 62:403–408.
- Rouanet H, Bernard JM, Leroux B. 1990. *Statistiques en sciences humaines: Analyse inductive des donnees*. Dunot. Paris.
- Simon NW, Setlow B. 2006. Post-training amphetamine administration enhances memory consolidation in appetitive Pavlovian conditioning: Implications for drug

- addiction. *Neurobiol Learn Mem* 86:305–10.
- Soetens E, Casaer S, D'Hooge R, Hueting JE. 1995. Effect of amphetamine on long-term retention of verbal material. *Psychopharmacology (Berl)* 119:155–62.
- Soetens E, D'Hooge R, Hueting JE. 1993. Amphetamine enhances human-memory consolidation. *Neurosci Lett* 161:9–12.
- Solanki N, Alkadhi I, Atrooz F, Patki G, Salim S. 2015. Grape powder prevents cognitive, behavioral, and biochemical impairments in a rat model of posttraumatic stress disorder. *Nutr Res* 35:65–75.
- Thiébot MH, Dangoumau L, Richard G, Puech AJ. 1991. Safety signal withdrawal: a behavioural paradigm sensitive to both “anxiolytic” and “anxiogenic” drugs under identical experimental conditions. *Psychopharmacology (Berl)* 103:415–24.
- Toledano D, Gisquet-Verrier P. 2014. Only susceptible rats exposed to a model of PTSD exhibit reactivity to trauma-related cues and other symptoms: An effect abolished by a single amphetamine injection. *Behav Brain Res* 272:165–174.
- Toledano D, Tassin J-P, Gisquet-Verrier P. 2013. Traumatic stress in rats induces noradrenergic-dependent long-term behavioral sensitization: role of individual differences and similarities with dependence on drugs of abuse. *Psychopharmacology (Berl)* 230:465–476.
- Wiig KA, Whitlock JR, Epstein MH, Carpenter RL, Bear MF. 2009. The levo enantiomer of amphetamine increases memory consolidation and gene expression in the hippocampus without producing locomotor stimulation. *Neurobiol Learn Mem* 92:106–13.

## 2. Remodelage des souvenirs traumatiques : une nouvelle voie thérapeutique

### **Publication n°5**

---

## **Remodelage émotionnel chez des rats traumatisés grâce à l'ocytocine : nouvelle piste thérapeutique pour le TSPT.**

---

*Claire Le Dorze, Pascale Gisquet-Verrier*

### 2.1. But article

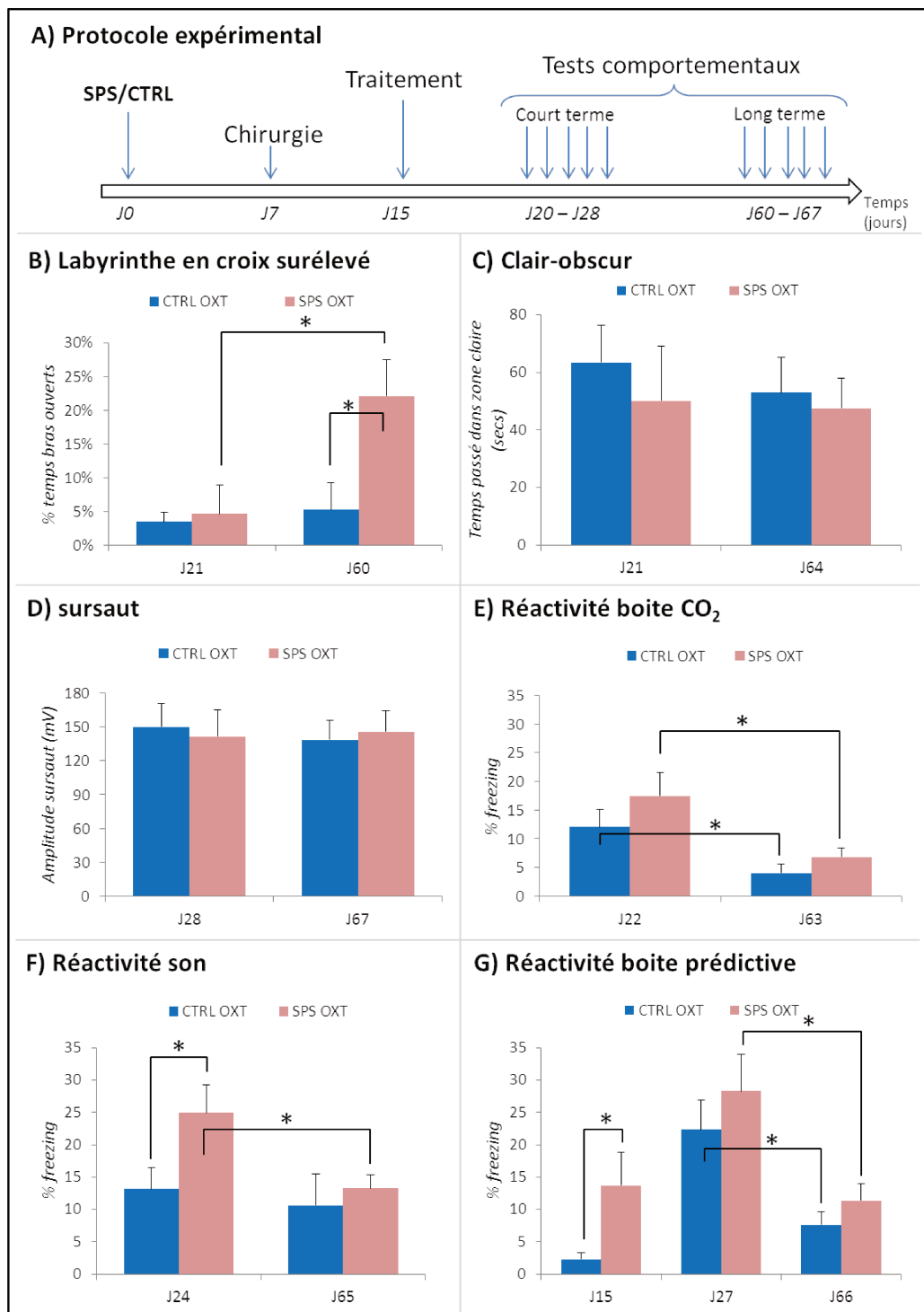
Faisant suite aux travaux précédents, cet article propose un remodelage émotionnel comme traitement possible pour les troubles de stress traumatique, en utilisant l'ocytocine comme agent relaxant. En effet, l'ocytocine, connu pour augmenter la confiance en soi, se retrouve libérée après des injections d'amphétamines, et pourrait alors être à l'origine des effets positifs de cette drogue.

### 2.2. Résultats préliminaires

Une expérience préliminaire a été réalisée afin d'observer les effets d'un remodelage de souvenirs traumatiques utilisant l'ocytocine (icv, 1µg/µL-10µL) comme agent relaxant. Une semaine après le traumatisme, les animaux ont subi une chirurgie permettant de placer une canule dans le ventricule latérale (coordonnées, voir matériel et méthode publication n°5). Celle-ci permettra d'injecter l'ocytocine directement dans la structure d'intérêt. Le traitement a donc lieu 15 jours après le traumatisme, soit une semaine après la chirurgie. Nos deux groupes de rats, CTRL ou SPS, ont alors reçu de l'ocytocine 40 minutes avant de réactiver la mémoire traumatique en exposant les animaux à la boîte prédictive du traumatisme. Les effets comportementaux ont été analysés 5 jours et 39 jours après le traitement (voir figure 17A), en utilisant des tests d'anxiété, de vigilance ou de réactivité aux

indices associés au traumatisme. Lors du traitement, les animaux traumatisés montrent un taux de freezing plus important que les contrôles lors de l'exposition à la boîte prédictive (figure 17G, première colonne). Peu après le traitement (à J21, figure 17B-H : colonnes de gauche de chaque graphique), le SPS induit des réponses de freezing significativement plus importantes lors de l'exposition au son. On note également une anxiété élevée dans le labyrinthe en croix surélevé (moins de 5% de temps passé dans les bras ouverts), et une réactivité importante en réponse à l'exposition à la boîte au CO<sub>2</sub> et à la boîte prédictive (figure 17G, colonnes du milieu). Ces données indiquent que 5 jours après le traitement, les effets du SPS sont encore présents.

A long terme (J65 ; colonnes de droite), les SPS traités à l'ocytocine sont significativement moins anxieux que les contrôles dans le test du labyrinthe en croix surélevé et aucune différence entre les deux groupes n'est observée pour tous les autres tests. De plus, on remarque une diminution significative des réponses de peur entre J21 et J65 chez les rats SPS pour les tests de labyrinthe en croix surélevé, de réactivité au CO<sub>2</sub>, du son et à la boîte prédictive, indiquant une diminution des symptômes de type TSPT.



**Figure 17 : Résultats expérience préliminaire sur remodelage avec oxytocine**

A) Protocol expérimental, B) Labyrinthe en croix surélevé : pourcentage de temps passé dans les bras ouverts sur une période de 5 min à J20 puis à J60, C) clair-obscur : moyenne du temps passé (en secs) dans la zone éclairée sur une période de 5 min à J21 puis à J64, D) Sursaut : moyenne de l'amplitude de sursaut (en mV) sur une période de 16 min à J28 puis à J67, E) Réactivité boîte CO<sub>2</sub> : pourcentage de temps passé en freezing dans la boîte au CO<sub>2</sub> sur une période de 90 secs à J22 puis à J63, F) Réactivité son : pourcentage de temps passé en freezing en présence du son associé au SPS sur une période de 90 secs à J24 puis à J65, G) Réactivité boîte prédictive : pourcentage de temps passé en freezing dans la boîte prédictive du SPS sur une période de 60 secs à J15 (pendant le traitement), à J27, puis à J66.

	Tests	EPM	LD	Sursaut	CO2	Son	Boite Prédictive
<b>5 jours post traitement</b>	stats	F<1	F<1	F<1	F(1-18)=1.11, ns	F(1-18)=4.77, p=0.05	F<1
	Symp- tômes	±	0	0	±	+	±
<b>39 jours post traitement</b>	stats	F(1-18)=6.18, p=0.021	F<1	F<1	F(1-18)=1.54, ns	F<1	F(1-18)=1.25, ns
	Symp- tômes	0	0	0	0	0	0
	Effet délai chez SPS	F(1-9)=6.60, p=0.029	F<1	F<1	F(1-9)=4.98, p=0.049	F(1-9)=5.03, p=0.048	F(1-9)=7.28, p=0.023

***Tableau 10 : résumé des résultats de l'expérience préliminaire de remodelage à l'ocytocine***

Cette expérience suggère une efficacité à long terme du remodelage à l'ocytocine. Bien qu'encourageants, ces résultats préliminaires doivent d'être confirmés en adjoignant un groupe SPS non traité, permettant de vérifier que la disparition des symptômes est bien due au traitement, et non à l'allongement du délai.

### 2.3. Que fait l'article

La publication n°5 décrit l'efficacité d'un remodelage émotionnel par ocytocine. Dans cette expérience, les effets du SPS sont déterminés avant le traitement, ce qui permet d'apprécier la vulnérabilité des animaux au SPS. L'efficacité du traitement est analysée au niveau comportemental, sur les symptômes de type TSPT et la réactivité aux indices de rappel. Les modifications sont également au niveau anatomique, en étudiant les changements cérébraux via l'analyse de la densité des épines dendritiques au niveau du CPFm, de l'amygdale, de l'hippocampe et du Noyau accumbens (cette analyse, réalisée en collaboration avec l'équipe de M. Ammassari, CNR, Rome, Italie, est actuellement en cours et les résultats ne sont pas rapportés dans l'article).

### 2.4. Méthodes

Après le SPS, les rats sont d'abord séparés en résilients et vulnérables afin de vérifier la présence des symptômes. Un guide d'injection est ensuite placé au niveau du ventricule cérébral, afin de permettre l'injection intracérébrale d'ocytocine. Le traitement est délivré 3 semaines après le SPS. Après l'injection d'ocytocine permettant d'induire un état de relaxation, les rats sont exposés à un indice prédictif du traumatisme. Dans le but d'améliorer l'efficacité du traitement (publication n°4 et résultats préliminaires), un deuxième traitement est réalisé dans les mêmes conditions en réactivant le traumatisme avec un autre indice contextuel, le son présent pendant le SPS. Une seconde série de tests comportementaux est alors réalisée afin de rechercher les symptômes de type TSPT et la réactivité aux indices après traitement. En fin d'expérience (J54), soit 24 jours après le traitement, les animaux sont réexposés une dernière fois à différents indices de rappel en même temps (la boîte prédictive, le son et l'odeur associé au SPS) avant d'être sacrifiés pour pouvoir étudier les changements neuronaux liés au SPS.

### 2.5. Principaux résultats

Nos résultats indiquent que les rats vulnérables ayant reçu le remodelage à l'ocytocine ne montrent plus de symptômes de type TSPT, ni de réactivité aux différents indices de rappel associé au SPS, alors que les symptômes sont toujours présents chez les rats vulnérables au SPS, n'ayant pas reçu d'ocytocine. Ainsi, 82% des rats vulnérables non traités (saline) montrent toujours des symptômes de type TSPT, alors que 17% des vulnérables traités présentent toujours des symptômes de la pathologie.

## 2.6. Conclusion

Ces résultats indiquent qu'un remodelage émotionnel à l'ocytocine diminue les symptômes de types TSPT et abolie les réactions de peur provoquées par l'exposition à des indices associés au traumatisme. Bien que nous n'ayons pour l'instant que des résultats partiels, il semble que ce traitement permette aussi un retour à la normale des épines dendritique au niveau du CPFm.

Ce traitement, efficace et durable, constitue une nouvelle thérapeutique novatrice facilement applicable à l'homme. En réduisant la valence émotionnelle du souvenir traumatique, ce traitement devrait permettre de diminuer notablement le nombre et l'intensité des reviviscences et donc protéger le patient des risques de rechutes. Si nos hypothèses sont exactes, ce traitement devrait également être efficace sur des personnes atteintes de dépendance aux drogues d'abus.





# **Memory remodeling with Oxytocin: A new treatment for PTSD-like symptoms**

**Claire Le Dorze<sup>1</sup> and Pascale Gisquet-Verrier<sup>1\*</sup>**

<sup>1</sup>Neuro-PSI, Université Paris-Sud, CNRS UMR9197,

Université Paris-Saclay, Orsay, France.

**\* Corresponding author:** Pascale Gisquet-Verrier, Neuro-PSI, CNRS UMR9197,  
Bat 446, Université Paris-Sud, 91405 Orsay, France.

[pascale.gisquet@u-psud.fr](mailto:pascale.gisquet@u-psud.fr)

## ABSTRACT

Post-traumatic Stress Disorder (PTSD) is a debilitating pathology with numerous but poorly effective treatments, mainly due to the high rates of relapse. Memory in an active state (after training or reactivation) is malleable and can integrate new information. We recently showed evidence suggesting that new emotional information, induced by a pharmacological treatment, can be integrated and modulate the strength of trauma consequences. Here we investigate the possibility to decrease the emotional valence of a trauma memory by combining intracerebral oxytocin infusion, known to induce positive effects, with memory reactivation. Rats received a Single Prolonged Stress, delivered together with contextual cues. Two weeks later, rats were tested for PTSD-like symptoms, and identified as vulnerable or resilient. During the remodeling treatment, rats first received oxytocin (1µg/µL-20µL, i.c.v injection), or saline, 40 min before being exposed to a trauma-associated cue known to reactivate the trauma memory. The effectiveness of the treatment was assessed few days later on PTSD-like symptoms tests as well as on reactivity to trauma-associated cues. The present results showed that the oxytocin durably decreased all trauma-induced behavioural changes in vulnerable rats which became like resilient rats. From these results, it appears that emotional remodelling, combining a pharmacological agent inducing a positive mood and memory reactivation, constitutes a new and promising therapeutic approach for pathological memories.

## INTRODUCTION

Intrusions of traumatic memories and flashbacks that occur in response to trauma cues constitute the core of the post-traumatic stress disorder. A way to decrease the hyper reactivity to trauma associated cues is to decrease the emotional valence of the trauma memory. Numerous evidence indicate that memory in an active state (after training or reactivation) is malleable and can integrate new information, such as events, internal state and context (Briggs and Riccio, 2008; Gisquet-Verrier et al., 2015; Gisquet-Verrier and Riccio, 2012). We have recently demonstrated (Toledano and Gisquet-Verrier, 2014) that malleability can be used to reduce the emotional valence of the trauma memory using an amphetamine injection to induce positive effects. In another experiment, we showed that amphetamine can either increase or decrease PTSD-like symptoms, depending on the conditions of the amphetamine injection (Le Dorze and Gisquet-Verrier, in prep). This result led us to consider other potential treatments. The literature indicates that another form of amphetamine, the methylenedioxy methamphetamine (MDMA), also known as 'ecstasy', has been used with success as an adjunct for psychotherapy by a number of Californian therapists for treatment-resistant PTSD (See Parrott, 2007 for a review). This treatment, supposed to strengthen the therapeutic alliance, has later been discarded because of the potential risks of addictive use. However, It has been proposed that the effect of MDMA should in fact be due to the release of oxytocin (Greer and Tolbert, 1986), a neuropeptide that received considerable attention in the last decade for its effects on social cognition and emotion (for review: Heinrichs et al., 2009). Oxytocin, a nonapeptide synthesized in the paraventricular and supraoptical nuclei of the hypothalamus, exerts a wide spectrum of central and peripheral effects as neurohormone, neurotransmitter or neuromodulator (Hoyle, 1999; Kiss and Mikkelsen, 2005). Oxytocin or related homologues are found in all vertebrates. Oxytocin is released by the magnocellular neurons into the systemic circulation in the neurohypophysis. Oxytocin is also produced in peripheral tissues including uterus, placenta, amnion, corpus luteum, testis and heart. Its actions are transduced via the oxytocin receptor, found in various brain regions, in particular the hippocampus, the septum and the amygdala, which are highly associated with behaviour, emotion and memory (Huber et al., 2005; Landgraf and Neumann; Verbalis, 1999). It has been reported that oxytocin may increase social approach and adaptation by reducing

anxiety and stress in social interactions and promotes trusting behavior in humans (Baumgartner et al., 2008; Kosfeld et al., 2005). In rodents, it has been shown that intracerebral infusion of oxytocin reduced arousal in non-stressed rats (Ayers et al., 2011), and decreased contextual fear (Bohus et al., 1978; Knobloch et al., 2012; Wan et al., 1992).

The aim of the present experiment was thus to use an emotional remodeling with oxytocin, in traumatized rats. Using the single prolonged stress, a PTSD animal model, we are able to identify resilient and vulnerable rats on the basis of three different symptom tests. In the present experiment, Control, resilient and vulnerable rats were treated with a remodeling treatment combining either intracerebrally delivered oxytocin (1µg/µl-20µL) or saline, and a trauma reminder exposure to reactivate the trauma memory. Rats were then tested for different PTSD-like symptom tests, as well as for their reactivity to various trauma-associated cues, after different time delays, in order to test the effectiveness of the emotional remodeling treatment.

## **MATERIAL AND METHODS**

### **1. Animals**

The subjects were 50 male Sprague Dawley rats weighing 250–275 g upon arrival, from Harlan Laboratories, France. They were housed in pairs under a 12 h light/dark cycle (lights on at 07:30), with food and water available ad libitum. Rats were habituated to the colony room at least 14 days prior to the start of the experiment, then handled, numbered and weighed. All efforts were made to minimize the number of animals used and their discomfort. All experiments were approved by the ethic committee CEE59 (ethics approval number 2015-07) in accordance with the European Communities Council Directive [2010/63/EU, 22 September 2010].

### **2. Video tracking system**

A flexible video tracking system (ANY-maze™, Stoelting Co, Wood Dale, USA) was used for automated scoring in the elevated plus maze, light-dark box and reactivity to trauma-associated cues tests. A video camera was placed above or next to the apparatus and the information was relayed to a monitor in an adjoining room to score the behavior in real time. Measures of freezing defined as the absence of all

movement, except for respiratory, were made manually, during exposures to trauma-associated cues, with the help of an ethologic key board on ANY-maze. All behavioral tests were done with an experimenter blind to the group conditions. To ensure the reliability of freezing measurement, experimenters were first trained with previous ANY-maze videotapes until their analyses match with the former ones. In addition, the main experimenter regularly checked the measurement through random re-reading of experimental videotapes.

### **3. Trauma design**

In this experiment, rats were first conditioned with an inhibitory avoidance, just before being exposed to a single prolonged stress procedure, following a procedure already used in a previous study (Le Dorze and Gisquet-Verrier, 2016b).

- Inhibitory avoidance task

The inhibitory avoidance took place in a plexiglas chamber (49 x 22 x 21 cm) separated by a sliding door dividing it into two equal size compartments: one black and one white. The floor in the black compartment consisted of metal grids spaced 1.2 cm apart, and the grids were connected to a shock source. A 40 W bulb was suspended above the center of the white compartment.

Each rat was placed in the white compartment for 1.5 min, then the light was turned on and the sliding door separating the two compartments was opened. Once the rat entered the black compartment, the sliding door was closed and two footshock (0,5 s; 0.5 mA) were delivered separated from 5 s. Immediately thereafter, rats were exposed to the Single Prolonged Stress. The controls rats were placed in the same conditions but did not receive any shocks. Exposure to the safe white compartment has been shown to be a very effective reminder which predicts the trauma, without being a part of it (Le Dorze and Gisquet-Verrier, 2016b).

- Single Prolonged Stress

Single prolonged stress (SPS) was induced in the presence of additional cues, including a tone (metronome pulsations -120 bpm- present throughout SPS) and an odor (acetophenone -Sigma-Aldrich, 5µl- soaked in a piece of cotton wool placed in proximity to the restriction container), later used as trauma-associated cues. Rats were first restrained for 2 hrs in a transparent conical Plexiglas restriction container (21 × 7.5 cm) with a hole in the small end of the cone allowing rats to breath.

Immediately thereafter, rats were placed for 20 min in a water tank (57.5 cm of depth; 26.5 cm of diameter) filled two-thirds from the bottom with water ( $26\pm 1$  °C) in such a way they were unable to rest by using their tails for support. Each rat was then dried before being placed in a cage (45 cm long x 24 cm wide x 20 cm high) under a lamp for a 15-min rest. Finally, rats were enclosed in a small chamber (19.5 × 14 × 11.5 cm), saturated in CO<sub>2</sub><sup>1</sup> induced by dry ice, until loss of consciousness (about 45–50 s). They were then quickly removed and carefully observed until complete recovery, before being returned to their home cage. All steps were done individually. Control rats were exposed to the same cues and apparatus as experimental rats: they were first placed in a cage next to the restraint tube during 2 hours, then on a support (30 cm high, 26 cm diameter) placed in the swimming pool without water. After a 15-min rest in a cage under a lamp, they were enclosed in the CO<sub>2</sub> box without dry-ice.

#### **4. Surgery: Cannula implantation**

Guide cannula implantation was performed after ketamine (75 mg/kg) / xylazine (10 mg/kg) anesthesia (intraperitoneal injection with 0.2 ml/100g body weight). Animals were mounted on a stereotaxic frame (Kopf Instruments), and a guide cannula (21G; rats, 12mm length, Phymep, France) was implanted above the right lateral ventricular (AP: +1.0 mm from bregma, ML + 1.6 mm, V + 1.8 mm). The guide cannula secured on the skull with screws and dental cement (Dentalon) and closed by a stainless steel dummy cannula. Rats were then separated and stay individually in a new home cage for 1 week.

#### **5. Remodeling treatment**

Remodeling involved a drug injection performed to induce a positive state, followed by a trauma reactivation. Two remodeling sessions separated by one day were delivered

- Intracerebral drug infusions

Five days after surgery, animals were handled, (stroking, holding, and cleaning of their dummy cannula was removed and replaced for 2 days to insure that the cannula was not blocked and to minimize stress responses during the treatment. Intracerebral infusions took place in a new room dimly lighted (15 lux). Each in its home-cage rat

---

<sup>1</sup> CO<sub>2</sub> was used instead of ether, prohibited by French authorities. As assessed by non published experiments, CO<sub>2</sub> exposure alone did not alter symptom tests.

was placed in that room for one hour before receiving the injection. Intra-cerebroventricular (i.c.v.) infusions were performed via an infusion cannula (25G, extended 2 mm beyond the guide cannula) connected via polyethylene tubing to a 10- $\mu$ l syringe (Hamilton) during 5 min (1 $\mu$ l/min). Rats were injected either with saline (0.9%, 5 $\mu$ l) or oxytocin (Sigma-Aldrich, Saint Quentin Fallavier, France, 1 $\mu$ g/5 $\mu$ l). The infusion system was left in place 1 min following the infusion to allow diffusion of the solution. Rats stay in their home-cage (same room) during 40 min before the memory reactivation by exposure to cues.

- Exposure to the trauma-associated cues (Predictive Box, Tone)

Forty min after the injection, each rat was transported to the SPS room and exposed to a trauma-associated cue for 1 min. For the first treatment (D29), rats were placed in the safe compartment of the inhibitory avoidance which was timely associated with the SPS. On the second day (D31), they were placed in a new box and the trauma-associated tone (metronome, 120 bpm), was presented. Rats were then returned in their home-cage during 1 hour before returning to the colony room.

## **6. Behavioral protocols**

During all the behavioral tests presented below, rats returned to their home cage at the end of the test, and the experimental device was cleaned with a 70% ethanol solution (except for odor tests for which water was used).

- Anxiety: Elevated plus maze test

The EPM was constructed of black PVC, was 60 cm above the floor and placed in a dimly lit room. Four arms (50 cm long and 11 cm wide, two open and two closed with 50 cm high walls) were arranged in a cross with two arms of the same type facing each other. At the start of the experiment the animal was placed in the center of the maze facing a closed arm and was free to explore the maze in a 5-min period. Eighty per-cent of the animal's full body entering an open (12 lux) or closed arm (2 lux) was considered an entry, while an exit was defined as an entry in another area. The relative percentage of time spent in the open arms,  $(\text{time in the open arms} / (\text{time open arms} + \text{closed arms}) \times 100)$ , was used as an index of anxiety (Qiu et al., 2015; Wu et al., 2016), with a greater anxiety for a lower index.



- Anxiety: Light Dark exploration

The device (100 cm x 100 cm) was equally divided into 2 compartments: one brightly lit (60 lux) and the other dark (6 lux). The rat was placed in the dark side and was free to explore the apparatus during a 5-min period. Rats were considered to have entered a compartment when its entire body was in the compartment. The time spent in the light compartment was used as an index of anxiety (the less rats spent time in the lighted compartment, the more anxious they were, Solanki et al., 2015).

- Arousal: Acoustic startle response

Two startle chambers (Columbus instruments, Ohio, USA) were used. Each chamber (60 × 45 × 43 cm) included a ventilated, sound-attenuated lighted box providing a 68 dB background noise and contained a Plexiglas box (29 × 16.5 × 25 cm) equipped with a speaker and fitted with a piezoelectric accelerometer. In order to restrict movements during the test, rats were placed in a wire mesh cage (20 × 13 × 8 cm) enclosed in the Plexiglas box. The ASR session began with a 5-min period of acclimatization, followed by a series of five white noise sounds (1 dB; 20 ms; 20 s inter-sound-intervals) to define the baseline. Trials consisted of 30 consecutive presentations of 30 ms, 115 dB sounds (white noise), delivered over a 16-min period with a variable inter-sound intervals (mean=20 s). The startle response (in mV) was calculated by subtracting the baseline (in grams) from the peak amplitude. In our conditions, SPS always leads to a significant decrease of the startle response (for a discussion, see Toledano et al., 2013).

- Exposure to the trauma-associated odor

Rats were transported in a neutral room and placed for 90 s in a new cage with grids placed above a filter paper soaked with acetophenone (5 µl), the trauma-associated odor.

- Exposure to the trauma-associated tone

Rats were transported in a neutral room and placed for 90 s in a new box in which the trauma-associated tone was delivered (metronome 120 bpm).

- Exposure to the Predictive Box

Rats were transported in the SPS room (as during the treatment) and placed for 90 s in the safe Predictive Box.

- Exposure to the three different cues: Predictive Box, Odor and Tone

Rats were transported in the SPS room (as during the treatment) and placed for 90 s in the safe Predictive Box, with the presence of the trauma-Odor (5 µl on a filter paper soaked with acetophenone) and the trauma-Tone (metronome 120 bpm).

## **7. Experimental design**

The experimental design adopted for the present experiment is illustrated on Figure 1. Traumatized rats were divided in resilient and vulnerable on the basis of three symptom tests, according to a previously developed method (Le Dorze and Gisquet-Verrier, 2016b). Rats were determined Resilient (SPS-R) or Vulnerable (SPS-V) on the basis of three behavioral tests: the Light-Dark (LD), the Elevated Plus Maze (EPM) and the Acoustic Startle Response (ASR) test. A rat was considered to demonstrate a PTSD-like symptom when its performance differed from the mean level of the performance obtained by the CTRL group (from one standard deviation for the Light-Dark test and ½ standard deviation for the EPM and ASR tests). Rats exhibiting 2 or 3 symptoms were considered as Vulnerable, while the remaining traumatized rats were considered as Resilient.

After the rats' classification, each group (CTRL, SPS-R, SPS-V) were treated either by Saline or by Oxytocin injection, to get 6 different groups: CTRL Sal (n=7), CTRL Oxt (n=7), SPS-R Sal (n=7), SPS-R Oxt (n=6), SPS-V Sal (n=11), SPS-V Oxt (n=12).

## **8. Statistical analyses**

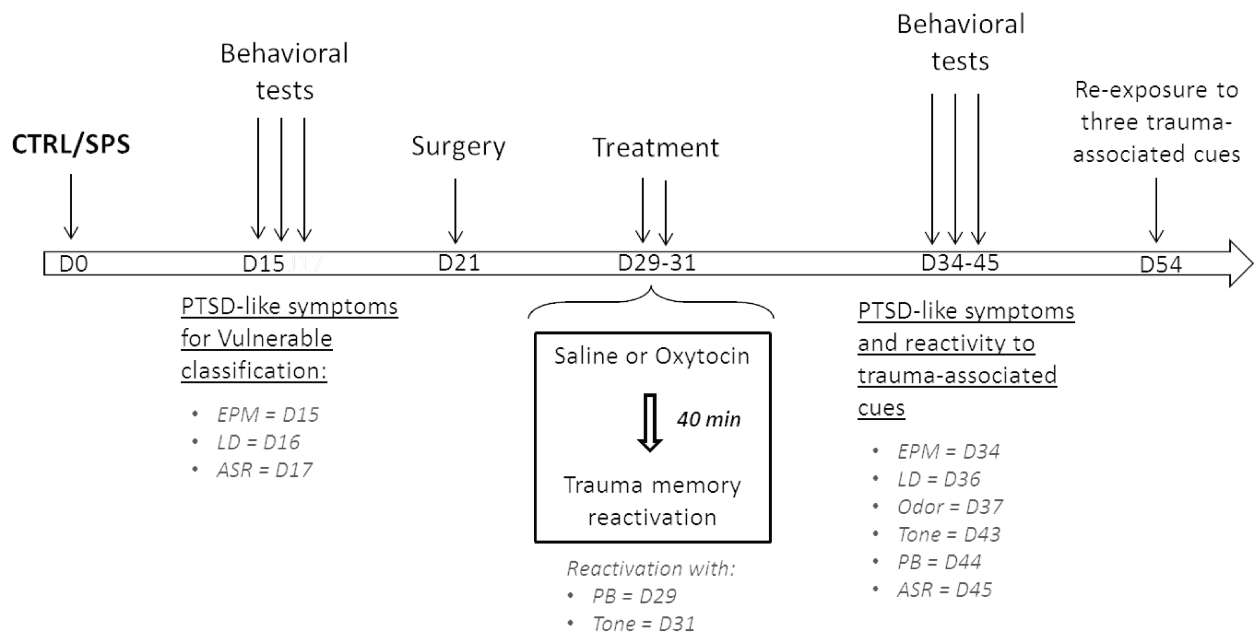
Statistical analyses were performed with standard ANOVAs, using VAR3 software (Rouanet et al., 1990), allowing subsequent planned comparisons, in case of significant main effects and interactions. Before the treatment, between group differences were assessed by one-way ANOVAs. After the treatment, two-way ANOVAs were used with trauma (CTRL or SPS) and injection conditions (Saline or Oxytocin), as between groups factors. To compare the proportion of rats showing PTSD-like symptoms at the end of the experiment among SPS-V (Sal and Oxt), chi square tests were used. In all tests, significant differences were set at  $p < 0.05$ .

## RESULTS

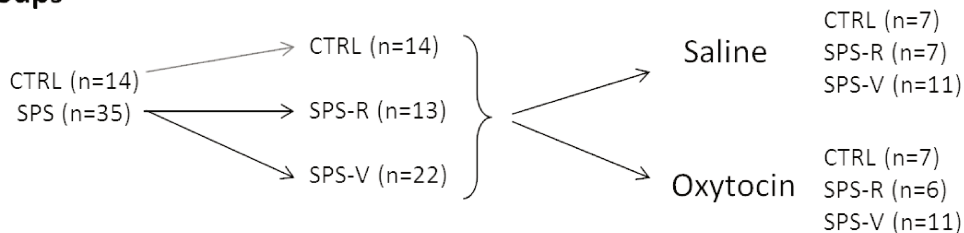
### 1. PTSD-like symptoms before the treatment

Two weeks after the trauma (SPS), control (n=14) and SPS (n=35) rats were tested for three PTSD-like symptoms used to defined vulnerable and resilient rats (ref) (see Fig.1). According to our experimental procedure described above, SPS rats were split into two groups, the resilient (SPS-R, n=13), and the vulnerable (SPS-V, n=22).

#### A) Général protocole



#### B) Groups



**Figure 1: Timeline of general protocol**

Main PTSD-like symptoms tests were assessed two weeks after the trauma to characterized SPS rats on vulnerable or resilient. Rats were exposed to the treatment (D29-31) before being re-test for the PTSD-like symptoms and reactivity to trauma-associated cues. At the end of the experiment, rats were exposed again to trauma-cues. Abbreviations: Elevated Plus Maze (EPM), Light Dark (LD), Acoustic Startle Response (ASR), Predictive Box (PB), reactivity to trauma-associated-tone or -odor (Tone or Odor).

### **Anxiety: Elevated Plus Maze (EPM-D15, Figure 2A)**

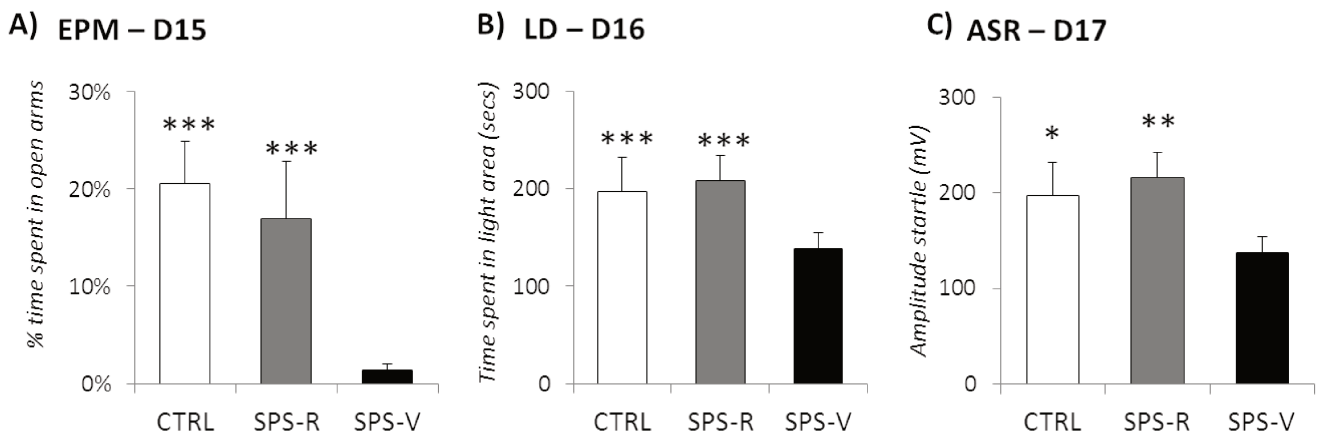
A one-way ANOVA performed on percent of the time spent in open arms of the EPM revealed a Group effect ( $F(2-48)=14.44$ ,  $p<.001$ ). Planned comparisons further indicated that the SPS-V rats spent significantly less time in open arms than both CTRL ( $F(1-35)=38.40$ ,  $p<.001$ ) and SPS-R rats ( $F(1-34)=19.68$ ,  $p<.001$ ), while CTRL and SPS-R rats behave similarly.

### **Anxiety: Light-Dark (LD-D16, Figure 2B)**

A one-way ANOVA performed on the time spent in the light area of the LD apparatus revealed a Group effect ( $F(2-48)=19.79$ ,  $p<.001$ ). SPS-V rats spent less time in the light area than both CTRL ( $F(1-35)=34.84$ ,  $p=0.00$ ) and SPS-R rats ( $F(1-34)=19.83$ ,  $p<.001$ ), when CTRL and SPS-R behave similarly.

### **Arousal: Acoustic Startle response (ASR-D17, Figure 2C)**

As for the first two tests, a one-way ANOVA performed on the startle response test revealed a Group effect ( $F(2-48)=4.21$ ,  $p=0.019$ ), indicating that vulnerable rats were different from control and resilient rats ( $F(1-35)=4.68$ ,  $p=0.034$  and  $F(1-34)=9.04$ ,  $p=0.004$ , respectively), highlighting the modification of arousal for SPS-V.



**Figure 2: PTSD-like symptoms tests before the treatment**

**A) EPM, performed at Day 15:** percentage of time spent in open arms, during a 5-min period. **B) LD, performed at Day 16:** time spent in the light compartment (secs), during a 5-min period. **C) ASR performed at Day 17:** mean startle amplitude (mV) obtained during the five blocks of six 115 dB tones. Data are expressed as mean  $\pm$  standard error of the mean (SEM).  $^* .05 > p > .01$ ;  $^{**} .01 > p > .001$ ;  $^{***} p < .001$ .

*As expected, vulnerable traumatized rats showed more anxiety and larger alteration of their arousal than control and resilient rats, which behaved similarly. This experiment indicates that among the SPS rats 37% were resilient and 62% were vulnerable, a percentage higher than the one generally obtained in our previous experiments (Le Dorze and Gisquet-Verrier, 2016b; Toledano and Gisquet-Verrier, 2014).*

## **2. PTSD-like symptoms and reactivity to trauma-associated cues after the memory remodeling treatment**

During the remodeling treatment, half of the rats was treated with Saline, while the other half was treated with Oxytocin, determining 6 groups, 3 Saline groups: CTRL (n=7), SPS-R (n=7) and SPS-V (n=11), and 3 Oxytocin groups: CTRL (n=7), SPS-R (n=6) and SPS-V (n=11). Rats received two remodeling sessions, one on day 29 with the reactivation induced by the predictive box and the other on Day 31, with reactivation trigger by the trauma associated tone. Three days after, rats were tested again for PTSD-like symptoms and their reactivity to trauma-associated cues, known to be affected by the SPS (Le Dorze and Gisquet-Verrier, 2016b) was also investigated. In the following tests, we are expected a Group effect only for the Saline treated groups, and a Treatment effect only for the Vulnerable groups. Global effect were thus not described here.

- **PTSD-like symptoms**

### **Anxiety: Elevated Plus Maze (EPM-D34, Figure 3A)**

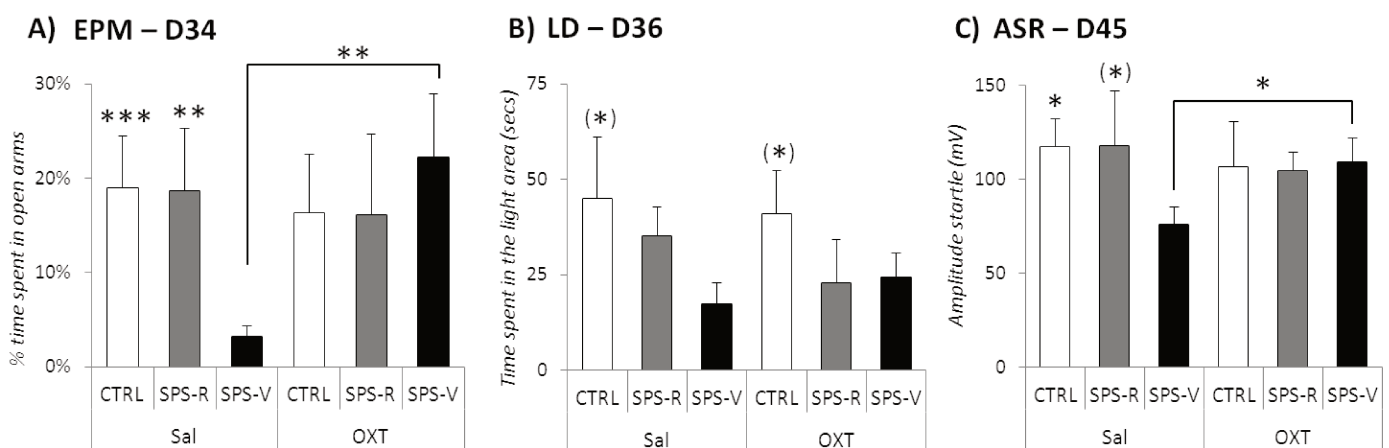
Planned comparisons of the two-way ANOVA performed on percent of the time spent in open arms of the EPM indicated that in the Saline condition, we have a Group effect ( $F(2-22)=6.52$ ,  $p=0.005$ ), with SPS-V rats still showing a greater anxiety than both CTRL and SPS-R rats ( $F(1-16)=15.04$ ,  $p=0.001$  and  $F(1-16)=10.51$ ,  $p=0.004$ , respectively) while no Group effect was obtained in the Oxytocin condition ( $F<1$ ). The treatment effect was also observed for SPS-V rats only ( $F(1-21)=7.35$ ,  $p=0.011$ ), indicating that the remodeling treatment decrease the anxiety on vulnerable rats.

### Anxiety: Light-Dark (LD-D36, Figure 3B)

Planned comparisons of a two-way ANOVA performed on the time spent in the light area indicated that CTRL were significantly higher than SPS-V groups ( $F(1-33)=5.72$ ,  $p=0.021$ ). The Group effect did not reach the significant level for each condition (saline:  $F(2-22)=2.38$ ,  $p=0.11$  or oxytocin:  $F(2-22)=1.09$ ,  $p=0.35$ ).

### Arousal: Acoustic Startle response (ASR-D45, Figure 3C)

Planned comparisons of a two-way ANOVA revealed that in the Saline condition, we have a tendency for a Group effect ( $F=3.38$ ,  $p=0.06$ ), indicating that the SPS-V still show a lower startle amplitude than CTRL ( $F=6.02$ ,  $p=0.022$ ) and just felt short significance for SPS-R ( $F=3.04$ ,  $p=0.09$ ) when no Group effect was obtained in the Oxytocin condition ( $F<1$ ). The treatment effect was also observed for SPS-V rats only ( $F=4.54$ ,  $p=0.04$ ), indicating that the remodeling treatment modulate the arousal on vulnerable rats to behave like controls.



### Figure 3: PTSD-like symptoms tests after the treatment

**A) EPM, performed at Day 34:** percentage of time spent in open arms, during a 5-min period. **B) LD, performed at Day 36:** time spent in the light compartment (secs), during a 5-min period. **C) ASR performed at Day 45:** mean startle amplitude (mV) obtained during the five blocks of six 115 dB tones. Data are expressed as mean  $\pm$  standard error of the mean (SEM). \*.05> $p$ >.01; \*\*.01> $p$ >.001; \*\*\* $p$ <.001.

Vulnerable rats treated with Saline still show anxiety and arousal compared to CTRL and Resilient, when Vulnerable rats treated with Oxytocin reduced their PTSD-like symptoms durably, except for the Light-Dark test.

- **Reactivity to trauma-associated cues**

**Reactivity to trauma cue: Odor (D37, Figure 4A)**

Planned comparisons of a two-way ANOVA performed on percent of time spent in freezing during the Odor exposure indicated that in the Saline condition, we have a Group effect ( $F(2-22)=3.37$ ,  $p=0.05$ ), indicating that the SPS-V still show a higher level of freezing and just fell short significance compared to CTRL ( $F(1-16)=3.91$ ,  $p=0.06$ ) and SPS-R ( $F(1-16)=3.18$ ,  $p=0.09$ ) when no Group effect was obtained in the Oxytocin condition ( $F<1$ ). The treatment effect was also observed for SPS-V rats only ( $F(1-21)=4.79$ ,  $p=0.038$ ), indicating that the remodeling treatment decrease the reactivity to the trauma-associated odor on vulnerable rats.

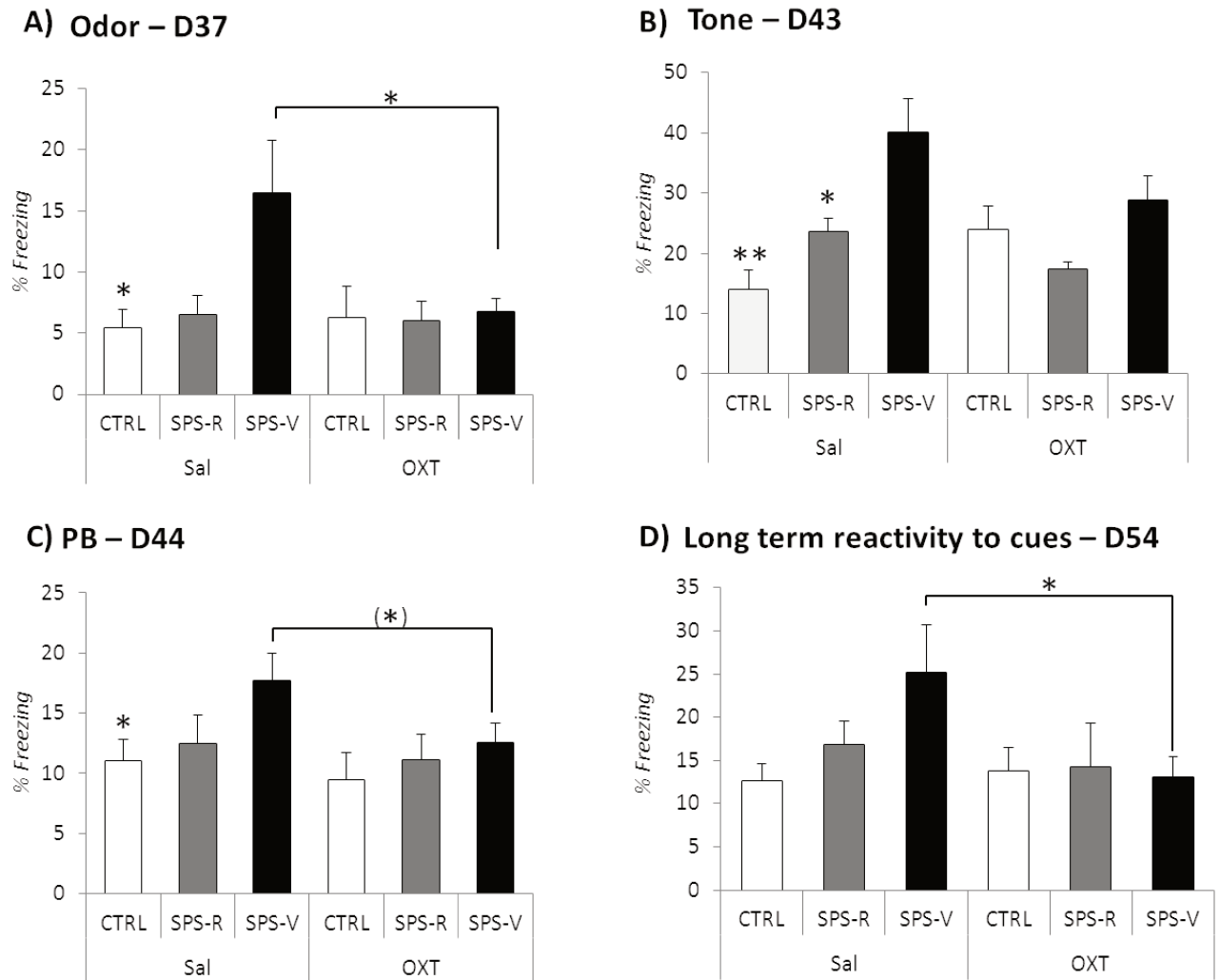
**Reactivity to trauma cue: Tone (D43, Figure 4B)**

Analyses performed on percent of time spent in freezing during the Tone exposure revealed that in the Saline condition, we have a Group effect ( $F(2-22)=7.76$ ,  $p=0.002$ ), indicating that the SPS-V still show a higher level of freezing than both CTRL ( $F(1-16)=11.05$ ,  $p=0.004$ ) and SPS-R ( $F(1-16)=4.65$ ,  $p=0.043$ ) when no Group effect was obtained in the Oxytocin condition ( $F(2-22)=2.15$ ,  $p=0.13$ ), indicating that Vulnerable rats treated under oxytocin did not show reactivity to the trauma-associated tone.

**Reactivity to trauma cue: Predictive Box (D44, Figure 4C)**

A two-way ANOVA performed on percent of time spent in freezing during the Predictive Box exposure revealed that in the Saline condition, we have a Group effect ( $F(2-22)=3.05$ ,  $p=0.056$ ), indicating that the SPS-V still show a higher level of freezing than CTRL ( $F(1-16)=4.4$ ,  $p=0.05$ ) but did not reach a significant level than SPS-R ( $F(1-16)=2.28$ ,  $p=0.14$ ). No Group effect was obtained in the Oxytocin condition ( $F<1$ ), and the treatment effect just fell short significant effect for SPS-V rats ( $F(1-22)=3.28$ ,  $p=0.08$ ), indicating that the remodeling treatment tends to decrease the reactivity to the Predictive Box on vulnerable rats.

*The remodeling treatment using oxytocin reduced reactivity to trauma-associated cues, even the odor-cue which was not used during the treatment.*



**Figure 4: reactivity to trauma-associated cues after the treatment**

**A) Odor, performed at Day 37:** mean amount of freezing during a 90-sec period. **B) Tone, performed at Day 43:** mean amount of freezing during a 90-sec period. **C) PB, performed at Day 44:** mean amount of freezing during a 90-sec period. Data are expressed as mean  $\pm$  standard error of the mean (SEM). **D) Exposure to the three trauma-cues, performed at Day 54:** mean amount of freezing during a 90-sec period.  $.05 > p > .01$ ;  $.01 > p > .001$ ;  $p < .001$ .

### 3. Long term effect of the remodeling treatment on reactivity to trauma-associated cues

One week after the last symptom test, rats were exposed to 3 different cues in the same time.

**Reactivity to trauma associated-cues: Predictive Box, Tone and Odor (D54, Figure 4D)**



A two-way ANOVA performed on percent of time spent in freezing during the exposure to these three cues revealed that the treatment effect was observed for SPS-V rats only ( $F(1-21)=4.64$ ,  $p=0.04$ ), indicating that at this point time, no relapse effect was observed.

**Summary of SPS and Treatment effects:** (Figure 5A)

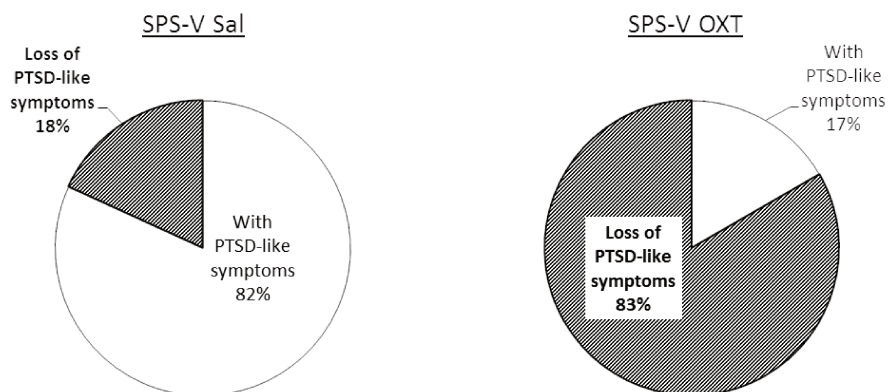
This table summarized the results obtained in a chronologic order since the remodeling treatment. SPS induced many behavioral changes linked to PTSD symptoms, as anxiety, arousal and reactivity to trauma-associated cues. Oxytocin rescue all SPS-induced behavioral changes (except for the LD test), even long after the treatment since its effect was still present three weeks later (D54).

These results indicate that after only two sessions, remodeling was a very effective treatment.

**A) Presence of PTSD-like symptoms**

Traumatized vulnerable rats	EPM D34	LD D36	Odor D37	Tone D43	PB D44	ASR D45	3 Cues D54
No treatment	+	+	+	+	+	+	+
Treatment	-	+	-	-	-	-	-

**B) Profile of Vulnerable rats**



**Figure 6: A) Summary of results** on the presence of PTSD-like symptoms on vulnerable traumatized rats, treated with oxytocin or not. **B) Profile of vulnerable traumatized rat** non treated (Sal) or treated with oxytocin (OXT).

### **Vulnerable rats profile under Saline or Oxytocin condition:** (Figure 5B)

When rats were classified in resilient and vulnerable on the basis of our three behavioral tests delivered after the remodeling treatment, 82%, (9 on 11) of the initial vulnerable rats treated with saline remained vulnerable. However, when treated with oxytocin, only 17% (2 on 11) of the rats initially classified vulnerable remained in this category while 83% (10 on 12) were then considered as resilient. A significant difference was obtained between the percent of rats remaining vulnerable in the two SPS-V groups ( $X^2=9.76$ ,  $p=0.0017$ ), indicating a clear effect of oxytocin associated with memory reactivation.

## **DISCUSSION**

The aim of this study was to investigate the possibility to use an emotional remodeling with oxytocin to treat post-traumatic stress disorders.

In the present experiment, rats were exposed to an animal model of PTSD and were identified as vulnerable or resilient on the basis of three different behavioral tests, targeting alteration of anxiety and arousal. As in our previous studies, vulnerable rats were significantly different from resilient and control rats, and there was no difference between these latter two groups (Le Dorze and Gisquet-Verrier, 2016a, 2016b). Rats received the remodeling treatment one month after the trauma. During two sessions, rats were first injected with saline or oxytocin before being exposed, 40 min later to a trauma reminder, known to be effective to reactivate the trauma memory. Additional behavioral tests were performed some days after to explore the PTSD-like symptoms in the different groups of rats. The results obtained during these tests indicated that when treated with saline, vulnerable rats still exhibited PTSD-like symptoms, such as anxiety and alteration of arousal. These rats also exhibited fear responses when exposed to trauma-associated cues such as the tone and the odor delivered during the SPS procedure. The remodeling treatment (oxytocin plus trauma reactivation) did not induce any detectable effect when delivered in control and resilient rats, except for the LD test. However, when delivered in vulnerable rats, the remodeling treatment with oxytocin significantly reduced anxiety (EPM test), as well as the alteration of the acoustic startle response. The treatment further abolished fear responses to trauma-associated cues, such as the odor, the tone, and the predictive box. In most cases significant differences were obtained between vulnerable rats when treated with

saline or oxytocin. The effects of the treatment were obtained over a period ranging from 5 to 14 days following the remodeling. Interestingly, these effects maintained over time since the exposure to three different trauma-associated cues (the odor and the tone delivered in the predictive box), delivered more than 3 weeks after the treatment, still elicited fear responses in vulnerable rats treated with saline, but not in vulnerable rats treated with the oxytocin remodeling treatment. The most remarkable result is undoubtedly the fact that 83% of the rats identified as vulnerable before the treatment, were considered as resilient after. This result suggests that emotional remodeling is an interesting and promising approach that must be further explored.

The present results confirm that associating a pharmacological treatment with memory reactivation is able to modify the reactivated memory. In a recent paper, we showed that amphetamine as a drug treatment for traumatized rats was able either to increase or to decrease the strength of PTSD-like symptoms, depending on the conditions used to deliver the drug. Oxytocin seems to have much powerful effects for remodeling than amphetamine. However, we must underlined that the efficacy of the amphetamine treatment was considered on all the traumatized rats while here, the treatment was tested on separated groups of vulnerable and resilient rats, and remodeling with oxytocin was shown to only affect vulnerable rats.

Oxytocin is well known to induce reduced anxiety and positive state in human (Baumgartner et al., 2008; Heinrichs et al., 2009) and in animals (Ayers et al., 2011; Wan et al., 1992). The present results indicate that when delivered before a memory reactivation, most of the behavioral changes resulting from a trauma disappeared. We proposed that this effect results from an emotional remodeling, but we have to consider the possibility that this treatment act by a way other such as disrupting the reconsolidation processes that take place after memory reactivation. We know that memory reactivation is able to render memory malleable and susceptible to various treatments. Since 2000, it is considered that reactivated memories re-enter in an unstable state after their reactivation and require a reconsolidation process to be restabilized (Nader and Hard, 2010). Considerable efforts have been made over the last ten years to disrupt “reconsolidation” after memory reactivation in order to erase pathological memories. Among amnesic treatments, propranolol has been intensively studied because of the possibility to use it in human. Propranolol is a beta adrenergic antagonist suspected to interfere with consolidation/reconsolidation processes.

Indeed, numerous studies have shown that propranolol appears to disrupt “reconsolidation process”, decreasing the fear responses to healthy volunteers and individuals with PTSD (For review: Giustino et al., 2016). However, there are lots of studies reporting a paradoxical effect of propranolol (For review: Argolo et al., 2015), which suggest that propranolol treatment after the traumatic event did not alter the incidence of PTSD, although physiological responses are generally attenuated. Recent experiments in human reported that propranolol has larger effect on PTSD, when applied several times and when delivered before the trauma reactivation (Brunet et al., 2011). Since propranolol is also known to have anxiolytic properties, these results could more result from an emotional remodeling than from a disruption of the reconsolidation processes. Supporting such a view, an effect of emotional remodeling with propranolol has recently been reported on a cocaine addicted patient (Chopin et al., 2016).

Oxytocin has recently been shown to normalize amygdala functional connectivity in PTSD patients (Koch et al., 2016). In rats, oxytocin has been reported to act on the central amygdala, inhibiting excitatory flow from the amygdala to brainstem sites that mediate the fear responses and reducing conditioned fear (Huber et al., 2005; Knobloch et al., 2012). We proposed that when delivered before memory reactivation, oxytocin reduce the emotional value evoked by the trauma reminder. Because of the malleability of active memory, this new emotional value is integrated within the trauma memory, reducing the negative consequences of the trauma. The present results indicate that emotional remodeling is an interesting and promising therapeutic approach which has to be further explored to treat pathological memory related disorders.

## **ACKNOWLEDGMENTS**

Funding: Claire Le Dorze was supported by a DGA-MRIS (Direction Générale de l'Armement) scholarship. We thank Aurélie Bonnilla, Céline Dubois and Fabien Lhéricel for the animal care, and Mareva Bleuzé for her assistance during the experimental study.

## **CONFLICT OF INTEREST**

The authors declare no conflict of interest.

## REFERENCES

- Argolo, F. C., Cavalcanti-Ribeiro, P., Netto, L. R., and Quarantini, L. C. (2015). Prevention of posttraumatic stress disorder with propranolol: A meta-analytic review. *J. Psychosom. Res.* 79, 89–93. doi:10.1016/j.jpsychores.2015.04.006.
- Ayers, L. W., Missig, G., Schulkin, J., and Rosen, J. B. (2011). Oxytocin reduces background anxiety in a fear-potentiated startle paradigm: peripheral vs central administration. *Neuropsychopharmacology* 36, 2488–97. doi:10.1038/npp.2011.138.
- Baumgartner, T., Heinrichs, M., Vonlanthen, A., Fischbacher, U., and Fehr, E. (2008). Oxytocin Shapes the Neural Circuitry of Trust and Trust Adaptation in Humans. *Neuron* 58, 639–650. doi:10.1016/j.neuron.2008.04.009.
- Bohus, B., Kovačcs, G. L., and De Wied, D. (1978). Oxytocin, vasopressin and memory: opposite effects on consolidation and retrieval processes. doi:10.1016/0006-8993(78)90052-5.
- Briggs, J. F., and Riccio, D. C. (2008). Transfer of Old “Reactivated” Memory Retrieval Cues in Rats. *Learn. Motiv.* 39, 13–23. doi:10.1016/j.lmot.2007.04.001.
- Chopin, M.-V., Peretti, C.-S., Gisquet-Verrier, P., Hoffmann, C., Belaïd, A., and Chouinard, G. (2016). Cocaine Use Disorder Treated with Specific Cognitive Behavioral Therapy and Adjunctive Propranolol. *Psychother. Psychosom.* 85, 61–63. doi:10.1159/000441036.
- Le Dorze, C., and Gisquet-Verrier, P. (2016a). Effects of multiple brief exposures to trauma-associated cues on traumatized resilient and vulnerable rats. *Brain Res.* doi:10.1016/j.brainres.2016.10.002.
- Le Dorze, C., and Gisquet-Verrier, P. (2016b). Sensitivity to trauma-associated cues is restricted to vulnerable traumatized rats and reinstated after extinction by yohimbine. *Behav. Brain Res.* 313, 120–134. doi:10.1016/j.bbr.2016.07.006.
- Gisquet-Verrier, P., Lynch, J. F., Cutolo, P., Toledano, D., Ulmen, A., Jasnow, A. M., et al. (2015). Integration of New Information with Active Memory Accounts for Retrograde Amnesia: A Challenge to the Consolidation/Reconsolidation Hypothesis? *J. Neurosci.* 35, 11623–11633. doi:10.1523/JNEUROSCI.1386-15.2015.
- Gisquet-Verrier, P., and Riccio, D. C. (2012). Memory reactivation effects independent of reconsolidation. *Learn. Mem.* 19, 401–409.

doi:10.1101/lm.026054.112.

- Giustino, T. F., Fitzgerald, P. J., and Maren, S. (2016). Revisiting propranolol and PTSD: Memory erasure or extinction enhancement? *Neurobiol. Learn. Mem.* 130, 26–33. doi:10.1016/j.nlm.2016.01.009.
- Greer, G., and Tolbert, R. (1986). Subjective reports of the effects of MDMA in a clinical setting. *J. Psychoactive Drugs* 18, 319–327.
- Heinrichs, M., von Dawans, B., and Domes, G. (2009). Oxytocin, vasopressin, and human social behavior. *Front. Neuroendocrinol.* 30, 548–557. doi:10.1016/j.yfrne.2009.05.005.
- Hoyle, C. H. (1999). Neuropeptide families and their receptors: evolutionary perspectives. *Brain Res.* 848, 1–25.
- Huber, D., Veinante, P., and Stoop, R. (2005). Vasopressin and oxytocin excite distinct neuronal populations in the central amygdala. *Science* 308, 245–8. doi:10.1126/science.1105636.
- Kiss, A., and Mikkelsen, J. D. (2005). Oxytocin--anatomy and functional assignments: a minireview. *Endocr. Regul.* 39, 97–105.
- Knobloch, H. S., Charlet, A., Hoffmann, L. C., Eliava, M., Khrulev, S., Cetin, A. H., et al. (2012). Evoked axonal oxytocin release in the central amygdala attenuates fear response. *Neuron* 73, 553–66. doi:10.1016/j.neuron.2011.11.030.
- Koch, S. B. J., van Zuiden, M., Nawijn, L., Frijling, J. L., Veltman, D. J., and Olf, M. (2016). Intranasal Oxytocin Normalizes Amygdala Functional Connectivity in Posttraumatic Stress Disorder. *Neuropsychopharmacology* 41, 2041–51. doi:10.1038/npp.2016.1.
- Kosfeld, M., Heinrichs, M., Zak, P. J., Fischbacher, U., and Fehr, E. (2005). Oxytocin increases trust in humans. *Nature* 435, 673–6. doi:10.1038/nature03701.
- Landgraf, R., and Neumann, I. D. Vasopressin and oxytocin release within the brain: a dynamic concept of multiple and variable modes of neuropeptide communication. *Front. Neuroendocrinol.* 25, 150–76. doi:10.1016/j.yfrne.2004.05.001.
- Parrott, a C. (2007). The psychotherapeutic potential of MDMA (3,4-methylenedioxymethamphetamine): an evidence-based review. *Psychopharmacology (Berl)*. 191, 181–193. doi:10.1007/s00213-007-0703-5.
- Qiu, Z.-K., Zhang, G.-H., He, J.-L., Ma, J.-C., Zeng, J., Shen, D., et al. (2015). Free and Easy Wanderer Plus (FEWP) improves behavioral deficits in an animal

- model of post-traumatic stress disorder by stimulating allopregnanolone biosynthesis. *Neurosci. Lett.* 602, 162–6. doi:10.1016/j.neulet.2015.06.055.
- Rouanet, H., Bernard, J. M., and Leroux, B. (1990). *Statistiques en sciences humaines: Analyse inductive des donnees*. Dunot. Paris.
- Solanki, N., Alkadhi, I., Atrooz, F., Patki, G., and Salim, S. (2015). Grape powder prevents cognitive, behavioral, and biochemical impairments in a rat model of posttraumatic stress disorder. *Nutr. Res.* 35, 65–75. doi:10.1016/j.nutres.2014.11.008.
- Toledano, D., and Gisquet-Verrier, P. (2014). Only susceptible rats exposed to a model of PTSD exhibit reactivity to trauma-related cues and other symptoms: An effect abolished by a single amphetamine injection. *Behav. Brain Res.* 272, 165–174. doi:10.1016/j.bbr.2014.06.039.
- Toledano, D., Tassin, J.-P., and Gisquet-Verrier, P. (2013). Traumatic stress in rats induces noradrenergic-dependent long-term behavioral sensitization: role of individual differences and similarities with dependence on drugs of abuse. *Psychopharmacology (Berl)*. 230, 465–476. doi:10.1007/s00213-013-3179-5.
- Verbalis, J. G. (1999). The brain oxytocin receptor(s)? *Front. Neuroendocrinol.* 20, 146–56. doi:10.1006/frne.1999.0178.
- Wan, R., Diamant, M., de Jong, W., and de Wied, D. (1992). Differential effects of ACTH4-10, DG-AVP, and DG-OXT on heart rate and passive avoidance behavior in rats. *Physiol. Behav.* 51, 507–13.
- Wu, Z.-M., Zheng, C.-H., Zhu, Z.-H., Wu, F.-T., Ni, G.-L., and Liang, Y. (2016). SiRNA-mediated serotonin transporter knockdown in the dorsal raphe nucleus rescues single prolonged stress-induced hippocampal autophagy in rats. *J. Neurol. Sci.* 360, 133–40. doi:10.1016/j.jns.2015.11.056.

# DISCUSSION





Le sujet de cette thèse repose sur l'idée selon laquelle la caractéristique principale du trouble de stress post traumatique est l'hypersensibilité aux indices environnementaux. Nous avons proposé que cette sensibilité puisse s'expliquer par un découplage monoaminergiques, initialement mis en évidence dans la dépendance aux drogues d'abus et se traduisant par une sensibilisation comportementale et une sensibilisation neurochimique, en réponse à un psychostimulant. Cette hypothèse propose également que trouble de stress post traumatique et dépendance aux drogues d'abus reposent pour partie sur des mécanismes communs, expliquant les ressemblances entre ces pathologies ainsi que le fort taux de comorbidité qui les caractérisent.

Cette thèse, centrée sur le trouble de stress post traumatique permet de compléter nos connaissances sur cette pathologie et sur un des modèles animaux qui permettent de l'étudier. De plus, elle offre des données originales qui se regroupent autour des trois axes de recherche développés : la recherche de l'hypersensibilité aux indices de rappel, la recherche de sensibilisation comportementale et neurochimique, et la recherche de nouvelles approches thérapeutiques.

Au cours de cette discussion, nous proposerons une synthèse des différents résultats obtenus, en les discutant avec les données de la littérature, nous présenterons l'apport de ces résultats à nos hypothèses de départ, et nous envisagerons les perspectives ouvertes par ce travail.

## **I- Synthèse des résultats**

### 1. Apports de nos données par rapport à la littérature existante

#### 1.1. Résilience et vulnérabilité

La plupart des études animales portant sur le stress post traumatique compare l'ensemble du groupe traumatisé à un groupe non traumatisé. Considérant que seule une partie de la population traumatisée développe un TSPT, de plus en plus d'études s'intéressent à la variabilité individuelle, et plus précisément la vulnérabilité des individus au traumatisme (Olson et al., 2011; Cohen et al., 2012a; Ardi et al., 2016). Certains auteurs travaillant sur des modèles animaux de TSPT comme l'exposition aux odeurs de prédateurs ou l'immersion sous l'eau ont développé une méthode de classification basée sur un test comportemental (Cohen et al., 2011; Ardi et al., 2016). Ces équipes ont mis en évidence des taux de vulnérabilité de l'ordre de 20-25%. En plus des effets obtenus sur les tests utilisés

dans la sélection, ils ont également montré des augmentations du taux de corticostérone et de CRH chez les vulnérables (Cohen et al., 2003), pouvant être compensés par une injection de neuropeptide Y (Cohen et al., 2012b), mais pas par le propranolol (Cohen et al., 2011).

En ce qui concerne le Single Prolonged Stress, aucune étude ne s'est attachée à séparer résilients et vulnérables, à part une première tentative a été réalisée au sein du laboratoire (Toledano and Gisquet-Verrier, 2014). En reprenant et en affinant la procédure utilisée, nous avons mis au point une technique de classification comportementale portant sur des critères établis sur la base de symptômes de type TSPT. Notre méthode utilise les résultats comportementaux de deux tests d'anxiété (labyrinthe en croix surélevé et clair-obscur) et d'un test de vigilance (sursaut), pour sélectionner les animaux vulnérables au traumatisme. Cette classification permet d'obtenir dans notre modèle animal du SPS entre 30 et 50% d'animaux vulnérables en fonction des expériences réalisées dans cette étude. Bien que généralement plus faible chez l'homme dans la population générale (15 à 30 % ; Kessler et al., 1995), ce taux est comparable à celui observé pour les faits de guerres (40% ; Chilcoat and Breslau, 1998). Nous avons pu montrer qu'une fois sélectionnés sur la base de ces trois tests comportementaux, les animaux vulnérables se révèlent également « vulnérables » sur les autres tests comportementaux proposés (évitement des indices, anhédonie...) ainsi que sur leur réactivité aux indices, démontrant ainsi la fiabilité de notre méthode.

## 1.2. Facteurs de risques

Comme nos animaux sont toujours caractérisés à leur arrivée sur leur niveau d'émotivité et leur réactivité à la nouveauté, le classement en vulnérables et résilients nous a permis de rechercher d'éventuels facteurs prédisposants au développement du TSPT. Nous avons pu montrer à plusieurs reprises que la réactivité à la nouveauté (LR-HR) n'est pas impliquée dans la vulnérabilité au traumatisme, puisqu'environ 50% des rats HR et LR se retrouvent chez les résilients et chez les vulnérables, et aucune corrélation entre le trait LR-HR et la présence de symptômes de type TSPT n'a pu être établie (voir aussi Toledano and Gisquet-Verrier, 2014).

Les rétro-analyses des profils des animaux vulnérables (publications n°1 et 2), indiquent que les animaux considérés comme anxieux avant le traumatisme ont plus de risques de montrer des symptômes de type TSPT. En effet, parmi les rats vulnérables, on retrouve en moyenne 80% de rats classés comme anxieux, validant ce trait de caractère comme facteur de risque pour le TSPT chez l'animal, reproduisant ce qui a été décrit chez l'homme (Weems

et al., 2007; McNally et al., 2011). Jusqu'à présent, la seule étude à notre connaissance ayant croisé anxiété et vulnérabilité au traumatisme dans un modèle animal du TSPT avait simplement montré que le taux de vulnérabilité augmentait chez des animaux ayant été exposés à un stress juvénile (Ardi et al., 2016). Ces auteurs ont également proposé qu'une augmentation de la densité des sous-unités alpha1 et 2 des récepteurs GABA-A dans l'hippocampe ventral puisse être un facteur de résilience.

### 1.3. Symptômes de type TSPT

A partir de la classification en résilients et vulnérables effectuée sur nos animaux, on remarque que les symptômes de type TSPT développés par les rats vulnérables peuvent être observés 15 jours après le stress traumatique, et jusqu'à 60 jours pour certains tests, indiquant que les effets sont stables et durables.

Cette étude permet de mettre en évidence certains symptômes déjà observés dans la littérature après exposition au Single Prolonged Stress. C'est le cas de l'anxiété ou la modulation de vigilance (Imanaka et al., 2006; Kohda et al., 2007; Ganon-Elazar and Akirav, 2012; Serova et al., 2013). Toutefois, nous montrons que ces effets sont en réalité restreints aux animaux vulnérables.

Bien que déjà observée dans d'autres modèles animaux du TSPT, l'anhédonie n'a été que récemment mise en évidence après exposition au SPS (Enman et al., 2015; Lin et al., 2016). Nous montrons que cette anhédonie mise en évidence par un test de préférence au sucre, est, comme pour les autres symptômes, restreinte aux animaux vulnérables (publication n°1). Le symptôme d'évitement des indices associés au SPS n'a à notre connaissance jamais été étudié dans une autre équipe. Si des données de la littérature indiquent après SPS l'évitement de contextes associés à un choc (Galatzer-Levy et al., 2014), ou l'évitement d'un objet neutre et d'un congénère (Eagle et al., 2013), notre équipe est la seule à avoir montré l'évitement d'une odeur associée au SPS (Toledano and Gisquet-Verrier, 2014). Les données de cette étude rapportent également la possibilité d'obtenir un évitement d'un objet utilisé lors du traumatisme, comme le tube de contention, (publication n°1). Enfin, le dernier symptôme mis en évidence par nos expériences est le déficit d'extinction. Comme pour l'évitement, les données de la littérature ne montrent que des déficits d'extinction liés au stimulus lié à un protocole de peur conditionnée (Keller et al., 2015). Ici, on observe que les expositions répétées aux indices associés au traumatisme conduisent à une diminution des réponses de peur, qui sont plus longues à s'éteindre pour la

population vulnérable (publication n°2), validant ainsi un réel déficit d'extinction lié aux stimuli du traumatisme.

## 2. Recherche d'une hypersensibilité aux indices de rappel

### 2.1. Réactivité aux indices associés au traumatisme

Nos hypothèses proposent que les dérégulations induites par un traumatisme se traduisent par une hypersensibilité aux indices environnementaux. Bien que les reviviscences soient au cœur de la pathologie, peu d'études se sont intéressées à cet aspect, notamment chez l'animal.

On remarque que des animaux traumatisés montrent des réactions de peur en présence d'éléments sources du traumatisme, comme le son présent lors d'un conditionnement son-choc (Wang et al., 2008; Deschaux et al., 2011; Zheng and Rinaman, 2013), l'odeur de prédateur utilisée initialement pour induire le traumatisme (Zoladz et al., 2013), ou de l'eau pour un stress par immersion (Ardi et al., 2014). Une étude récente sur le SPS a également montré des réactions de peur en présence d'un son, présent pendant le SPS, sur la population traumatisée (Perrine et al., 2016). Cependant, aucune de ces études n'a établi de relation entre vulnérabilité et réactivité à ces indices. Par ailleurs, elles ne se sont intéressées qu'à un seul stimulus, généralement le stimulus le plus fortement associé au traumatisme.

Nos données montrent que les animaux traumatisés vulnérables sont non seulement les seuls à développer des symptômes de type TSPT, mais également les seuls à réagir aux indices associés au SPS. Différents types d'indices ont été utilisés, et des comportements de peur lors de l'exposition à ces différents indices ont pu être observés. C'est le cas pour des indices contextuels, comme un son ou une odeur présents lors du déroulement du SPS, mais aussi pour des indices spécifiques directement impliqués dans les étapes du SPS, comme la boîte utilisée pour le malaise au CO<sub>2</sub>, ou la piscine utilisée pour la nage forcée. Enfin, la présentation d'une boîte fortement éclairée qui a été présentée aux animaux juste avant le SPS, permettant ainsi d'induire une relation temporelle entre la présentation de ce contexte et l'événement traumatique, provoque également de fortes réactions de peur, indiquant que la prédictibilité de ce contexte sur le SPS a été établie et conservée. Toutefois, les réactions de peur des indices spécifiques (boîte du malaise au CO<sub>2</sub> et piscine utilisée pour la nage forcée) ne sont pas observées systématiquement. Par exemple, lors de la présentation

de la piscine, les réactions de peur ne sont obtenues que lorsque les animaux sont placés dans une coupelle remplie de 2 cm d'eau. Ces données suggèrent la présence possible d'une amnésie pour certains types d'indices, comme le contexte général de la piscine, avec une hypermnésie pour un indice particulier qui serait ici l'eau (publication n°1). Ce résultat peut être rapproché de données récentes portant sur le paradoxe hypermnésie/amnésie et utilisant des injections de glucocorticoïdes dans l'hippocampe pour simuler un stress traumatique (Kaouane et al., 2012). Les souris sont placées dans un protocole de peur conditionnée dans lequel un son est présenté sans être prédictif du choc. Dans cette situation où le contexte est le meilleur prédicteur du choc, les auteurs notent que les souris injectées ont des réponses de peur plus faibles pour le contexte, que pour le son. Ces données indiquent que les animaux traumatisés n'arrivent pas à attribuer une saillance correcte aux différentes informations, suggérant une amnésie de type TSPT. Nos données montrent une bonne prise en compte des indices prédictifs et contextuels, par contre, lorsque qu'un indice contextuel est en compétition avec un autre indice comme la piscine de la nage forcée et la boîte associée à la perte de conscience au CO<sub>2</sub>, nos données indiquent que le contexte peut ne pas avoir été pris en compte, confirmant la possibilité d'obtenir, chez les mêmes animaux, une amnésie pour certains éléments associés au traumatisme, et une hypermnésie d'autres stimuli (Kaouane et al., 2012).

Nos données donnent également des informations concernant le développement de la réactivité aux indices. En effet, lorsque les animaux traumatisés sont exposés précocement aux indices de rappel, l'ensemble des animaux, résilients et vulnérables réagissent par des réponses de peur (publication n°2), alors que plus de 15 jours après le SPS, seuls les vulnérables continuent à réagir à ces indices associés au traumatisme (publication n°1). Nos données montrent une extinction rapide des réponses de peur chez les animaux résilients, visible dès la deuxième présentation qui n'intervient pas chez les vulnérables. De plus, les différents indices étudiés présentent une évolution différentielle. Par exemple, on note une forte réponse peur pour la piscine après le SPS et une absence de réponse quand l'indice est proposé longtemps après le traumatisme, alors que pour le son contextuel, on note une évolution inverse, avec des réponses plus forte à long terme. Ces données confirment le caractère dynamique de la trace et la relative indépendance des différents éléments (attributs mnésiques) qui la constituent (Gisquet-Verrier et al., 1989). Enfin, nous avons montré que même lorsque les réponses de peur sont éteintes, la présentation d'un stress

(contention) peut réactiver ces réponses de peur (publication n° 2), un résultat mettant bien en évidence la susceptibilité aux indices de rappel après TSPT.

## 2.2. Modulation des souvenirs traumatiques par réactivations mnésiques répétées

S'il est clair que les indices de rappel et les reviviscences sont au cœur de la pathologie du trouble de stress post traumatique, leurs rôles dans le développement de cette pathologie n'est pas encore clairement défini. Il a été proposé que le développement du TSPT résulte des reviviscences successives (Pynoos et al., 1993; Goenjian et al., 1994; Pitman et al., 2006) mais assez peu d'études se sont intéressées à ce problème chez l'animal. Si quelques études ont malgré tout montré l'importance de réexpositions à des indices associés à un événement aversif, et plus précisément prédictif de celui-ci (Pynoos et al., 1996), les études suivantes ont surtout utilisé ces réexpositions comme « modèle animal du TSPT » et non pour étudier leurs effets (Olson et al., 2011; Cleren et al., 2013; Corral-Frias et al., 2013; Hawley et al., 2013). Ces études ont montré que 3 à 6 courtes réexpositions d'un indice prédictif étaient capables d'amplifier des réponses de peur pouvant conduire au développement de symptômes de type TSPT (Pynoos et al., 1996; Inda et al., 2011). Nos données ont été réalisées sur des animaux traumatisés. Dans ces conditions, nous avons montré que 4 réexpositions induisent une augmentation des symptômes de type TSPT, alors que 8 réexpositions (identiques ou non) n'ont plus d'effet sur les symptômes, et induisent même une extinction des réponses de peur aux indices associés au traumatisme, qu'ils aient été utilisés pour les réexpositions ou non (publication n°2). Ces données sont intéressantes, car elles suggèrent que les reviviscences participent au renforcement des symptômes, mais qu'elles n'en sont probablement pas la seule cause.

## 3. Recherche de sensibilisation comportementale et neurochimique

L'équipe de J.P. Tassin a proposé qu'un découplage des systèmes monoaminergiques est à l'origine du maintien à long terme de la dépendance aux drogues d'abus et des fréquentes rechutes qui la caractérisent (Tassin, 2008). Nos hypothèses nous ont conduits à proposer qu'un mécanisme similaire est impliqué dans le trouble de stress post traumatique. Pour valider cette hypothèse, nous avons recherché ce découplage chez des rats traumatisés et plus particulièrement, à mettre en évidence ses conséquences, c'est à dire une sensibilisation comportementale et une sensibilisation neurochimique (publication n°3).

Nos données indiquent une augmentation de la libération de noradrénaline au sein de l'aire prélimbique du cortex préfrontal médian, en réponse à une injection d'amphétamine chez les animaux traumatisés vulnérables, alors que les animaux traumatisés résilients se comportent comme les rats contrôles. Ces données sont parfaitement en accord avec l'hypothèse selon laquelle un traumatisme induit un découplage monoaminergique. Elles sont importantes car elles montrent pour la première fois un lien entre la vulnérabilité au traumatisme et la réactivité noradrénergique corticale.

Cependant, nos données indiquent également une désensibilisation comportementale chez les rats traumatisés vulnérables, qui n'est pas obtenue chez les rats résilients, alors que nos hypothèses prédisaient une sensibilisation comportementale. Nous avons expliqué que la sensibilisation neurochimique constatée chez des souris après des injections répétées de drogues d'abus était à l'origine de la sensibilisation comportementale obtenue chez ces mêmes animaux (Salomon et al., 2006). Nos données montrent qu'après un traumatisme, on obtient bien une sensibilisation neurochimique, mais que dans ce cas, elle s'associe à une désensibilisation comportementale. L'interprétation de ces données pose donc un problème sur lequel nous allons revenir un peu plus tard dans cette discussion (section II.2.3).

D'après nos hypothèses, la présentation d'un indice associé au traumatisme devrait entraîner une activation des systèmes monoaminergiques, facilitant le rappel du souvenir du traumatisme et entraînant des reviviscences. Nous avons utilisé une injection d'amphétamine pour induire une stimulation des systèmes monoaminergiques et nous avons mis en évidence une désensibilisation. Cependant, lorsque nous avons utilisé l'exposition à des indices de rappel pour stimuler ces systèmes, nous avons obtenu une sensibilisation comportementale transitoire. Ces données sont intéressantes car elles suggèrent que la désensibilisation est le résultat d'une activation massive des systèmes monoaminergiques. De plus, elles montrent que l'exposition à des indices liés au traumatisme est capable d'activer le système noradrénergique, responsable de la sensibilisation comportementale. Notre équipe a d'ailleurs obtenu, une sensibilisation comportementale comparable en réponse à la présentation d'indices associés à la prise de drogue, chez des rats ayant reçu des injections répétées de drogues d'abus (Toledano and Gisquet-Verrier, 2016). Des données ont également montré une sensibilisation comportementale chez le rat obtenue par exposition à une musique associée à la prise de méthamphetamine (Polston et al., 2011). Ces résultats montrent que l'exposition à des



indices de rappel, après un traumatisme ou après la mise en place d'une dépendance, entraîne des conséquences physiologiques pouvant expliquer le phénomène de reviviscence ou le phénomène de « craving ». Le lien entre noradrénaline et reviviscence est également soutenu par un autre résultat obtenu dans cette thèse (publication n°1). Nous avons montré que l'injection de yohimbine qui stimule la libération de noradrénaline permet de restaurer des réactions de peur à l'odeur associée au SPS, qui avaient été préalablement éteintes par des réexpositions répétées. Ces données sont intéressantes car elles reproduisent là encore des données obtenues de façon identiques dans des protocoles de dépendance aux drogues d'abus (Shepard et al., 2004; Le et al., 2013) et montrent le lien entre reviviscence et noradrénaline.

#### 4. Modulation des souvenirs traumatiques par remodelage émotionnel : une nouvelle voie thérapeutique

##### 4.1. Remodelage avec amphétamine

Les données obtenues par l'équipe et indiquant une disparition des symptômes de TSPT après injection d'amphétamine ont été interprétées comme résultant d'un remodelage émotionnel (Toledano and Gisquet-Verrier, 2014). Dans cette étude, l'animal recevait une injection d'amphétamine avant d'être soumis à un test du corridor afin d'étudier la sensibilisation comportementale. Les tests réalisés après la sensibilisation ne montraient pas de symptômes de type TSPT. La réplication de cette expérience, a confirmé que la disparition des symptômes était bien liée à l'association entre l'injection d'amphétamine et des conditions de réactivation du traumatisme. L'amphétamine est connue pour induire une augmentation de l'éveil et de l'activité, mais aussi pour produire un sentiment de bien-être et de confiance en soi qui explique son utilisation chez l'homme en tant que drogue d'abus. Les auteurs ont fait l'hypothèse que le souvenir du traumatisme rendu malléable par la réactivation avait intégré la composante émotionnelle présente au moment de la réactivation, réduisant ainsi le caractère pathologique du souvenir traumatique. Pour valider cette hypothèse de remodelage, nous avons réalisé une expérience sur des animaux traumatisés dans laquelle, en jouant sur les conditions d'injection, nous montrons qu'un même traitement (amphétamine), délivré à la même dose (1 mg/kg), pouvait soit renforcer, soit diminuer les symptômes engendrés par un traumatisme (publication n°4). En effet, quand l'hyperactivité locomotrice peut s'exprimer librement après l'injection d'amphétamine, le protocole de remodelage émotionnel permet de diminuer durablement

des symptômes de type TSPT (peur et anxiété), alors que les symptômes sont amplifiés lorsque l'injection d'amphétamine s'accompagne d'une restriction de l'activité locomotrice. Cependant, les effets sur les symptômes sont relativement restreints et ne s'expriment pas sur tous les symptômes. Il faut remarquer que ces données ont été obtenues sur l'ensemble des animaux traumatisés et non uniquement sur les animaux vulnérables. Ceci peut avoir une incidence sur l'ampleur des effets observés. Le remodelage émotionnel est basé sur la réactivation du souvenir associé à une modification de l'état émotionnel. Il est aussi possible que l'exposition à un indice de rappel particulier n'entraîne qu'une réactivation partielle du souvenir (Merlo et al., 2015). Dans ce cas, l'efficacité du traitement pourrait être accrue après plusieurs traitements utilisant divers indices de rappel. Enfin, le choix de l'amphétamine a été circonstanciel et il est possible que d'autres drogues soient plus efficaces que l'amphétamine. Malgré, ces limites, il est important de souligner que cette étude est la première à montrer qu'il est possible d'utiliser la malléabilité d'un souvenir afin de modifier sa valence émotionnelle. Cette possibilité ouvre de nouvelles voies thérapeutiques, notamment pour les troubles de stress post traumatiques.

#### 4.2. Remodelage avec ocytocine

Une revue de la littérature sur les effets potentiels de l'amphétamine comme traitement du TSPT nous a permis de constater que plusieurs études cliniques ont rapporté des effets proches de ceux que nous avons obtenus sur l'animal (voir publication 4). Outre des effets anecdotiques (Crocq, 1999), on trouve plusieurs études rapportant l'efficacité d'une autre amphétamine, le 3,4-méthylènedioxy-méthamphétamine ou MDMA, appelée aussi ecstasy, lorsqu'elle est délivrée en appui d'une psychothérapie (Parrott, 2007; Mithoefer et al., 2016). Ces travaux notent que cette drogue permet d'augmenter l'alliance thérapeutique (Greer and Tolbert, 1986). L'utilisation de cette drogue classée dans le tableau des stupéfiants étant délicate, nous nous sommes tournés vers l'ocytocine car plusieurs auteurs ont suggéré que les effets positifs du MDMA pourraient être dus à la libération secondaire d'ocytocine. En effet, cet agent pharmacologique a des actions anxiolytiques, anti-stress, et augmente les comportements sociaux chez l'homme, comme chez l'animal (Herpertz and Bertsch, 2016; Shamay-Tsoory and Abu-Akel, 2016). De plus, des données rapportent que l'ocytocine exerce une action directe sur l'amygdale en réduisant les réponses de peur (Knobloch et al., 2012). Cet agent pharmacologique pourrait donc remplacer avantageusement l'amphétamine dans le cadre d'un remodelage émotionnel. Dans l'étude

que nous avons réalisée, les rats ont reçu, deux semaines après le SPS, deux traitements comportant une injection intracérébrale d'ocytocine associée à la présentation d'un indice de rappel. Nos données montrent qu'après un remodelage à l'ocytocine, les rats traumatisés vulnérables présentent des performances comparables à celles des rats résilients ou des rats contrôles dans quasiment tous les tests comportementaux proposés (publication n°5). Après traitement, alors que 85% des rats vulnérables non traités restent vulnérables, 15% des rats vulnérables traités le demeurent. Ces données indiquent l'efficacité du traitement de remodelage émotionnel et montre que l'ocytocine est une drogue efficace pour soigner les symptômes de type TSPT.

## II – Contribution de ce travail aux hypothèses de départ et perspectives

### 1. Hyper réactivité aux indices de rappel

Nous avons vu que seuls les animaux traumatisés vulnérables au traumatisme, c'est-à-dire ceux qui développent des symptômes de type TSPT, montrent une réactivité aux indices plus importantes que les animaux résilients et contrôles. La réactivité aux indices se manifeste également par des évitements qui ont été observés notamment pour l'odeur associée au SPS (voir aussi Tolédano et Gisquet-Verrier, 2014) et le tube de contention. Une généralisation de peur a également été mise en évidence au cours d'une de nos expériences montrant une diminution de l'exploration des animaux vulnérables qui touche non seulement la fusée de contention associée au SPS, mais aussi un objet nouveau (publication n°2). Un fait important à noter est que ces réponses de peur ont été obtenues pour quasiment tous les indices proposés, qu'ils concernent le contexte général (odeur, son) ou des indices plus spécifiques directement liés avec le traumatisme (fusée de contention, boîte de CO<sub>2</sub>), suggérant que la plupart des informations présentes dans la situation a été prise en compte et associée avec le traumatisme. Ces données vont dans le sens de nos hypothèses, cependant, la réactivité aux indices est relativement limitée puisqu'on note des réponses de peur qui se manifestent pendant 10 à 30% du temps de présentation des indices. Il est donc difficile de parler d'hyperréactivité aux indices de rappel chez les animaux vulnérables au traumatisme. Cependant ce résultat est à contraster avec plusieurs autres données obtenues, comme l'absence de réactivité à long terme aux indices notées chez les rats traumatisés résilients et la possibilité de provoquer la résurgence des réponses de peur après extinction, que ce soit avec un stress (publication n°2) ou après une stimulation du système noradrénergique (publication n° 1). Ces données indiquent que si les réponses ne sont pas aussi massives qu'on pouvait l'escompter, elles sont cependant extrêmement présentes et durables, même après de nombreuses réexpositions.

### 2. TSPT et découplage monoaminergique

#### 2.1. Sensibilisation neurochimique et TSPT

La mise en évidence d'une sensibilisation neurochimique est un résultat primordial par rapport à notre hypothèse de découplage. Nos données montrent une augmentation de la libération de noradrénaline corticale chez les animaux vulnérables au traumatisme. Le fait

que cette sensibilisation ne soit pas obtenue chez des animaux exposés au traumatisme, mais ne développant pas de symptômes de type TSPT, constitue un argument fort permettant de proposer une relation de cause à effet entre sensibilisation neurochimique et vulnérabilité. Ce résultat est un résultat original permettant pour la première fois de relier la vulnérabilité à la modification de la réactivité neuronale. Bien qu'il ne soit pas suffisant pour confirmer l'ensemble de nos hypothèses, il constitue un argument fort permettant d'envisager leur plausibilité.

Cependant ce résultat à lui seul ne démontre pas un découplage monoaminergique. En effet, dans cette thèse, seul le versant noradrénergique a été considéré et ces données doivent être complétées par des études recherchant la présence d'une sensibilisation sérotoninergique au sein du cortex préfrontal médian, en réponse à une activation de ce système, conformément à ce qui a été montré après des injections répétées de drogue d'abus (Lanteri et al., 2008). Il peut sembler paradoxal de considérer qu'une des causes du TSPT soit une sensibilisation sérotoninergique alors que l'utilisation d'inhibiteurs de la recapture de la sérotonine (ISRS) est l'un des traitements les plus efficaces pour cette pathologie. La littérature actuelle ne permet pas d'expliquer ce paradoxe, et des études complémentaires seront nécessaires pour le comprendre.

De plus, et en parallèle avec les études sur l'addiction, il est également important de rechercher l'absence de ces sensibilisations lorsque le système noradrénergique est bloqué (avec une injection de clonidine) pendant le traumatisme, pour vérifier que ces phénomènes sont comparables entre TSPT et injections répétées de drogues (Doucet et al., 2013).

## 2.2. Sensibilisation/désensibilisation comportementale et TSPT

Dans toutes les expériences réalisées dans cette thèse, des réponses différentes ont été observées chez les rats traumatisés vulnérables par rapport aux rats traumatisés résilients et aux rats contrôles qui réagissent de façons comparables. Les rats vulnérables sont en effet les seuls à montrer des symptômes de type TSPT, associés à une réactivité importante aux indices associés au stress traumatique. En ce qui concerne la sensibilisation comportementale, nos données indiquent que lorsque le système noradrénergique est activé par une injection d'amphétamine, on observe une désensibilisation comportementale chez les rats vulnérables, alors que lorsque le système est activé par une exposition à des indices de rappel, on observe une sensibilisation modeste et transitoire. Ces

sensibilisations/désensibilisations sont spécifiques des animaux vulnérables, et ne se retrouvent pas chez les résilients. Ces données suggèrent la possibilité d'une relation de cause à effet entre vulnérabilité et sensibilisation comportementale, mais ne la démontrent pas.

Dans des études réalisées dans l'équipe, la séparation des animaux sur la base de leur réactivité à la nouveauté a permis de montrer que les animaux réagissant faiblement (LR) montraient une sensibilisation comportementale, alors que les HR montraient une désensibilisation (Toledano et al., 2013). Ces données indiquaient également que cette désensibilisation ne pouvait pas être imputée au développement de stéréotypies et que les animaux HR ne correspondaient pas aux animaux vulnérables. Les données que nous avons obtenues sont cependant pour partie différentes de celles obtenues précédemment. En effet, lorsque les animaux sont séparés en HR/LR sur la base d'un test réalisé avant le traumatisme, nos données ne montrent aucune sensibilisation chez les rats LR, mais reproduisent bien la désensibilisation des HR (données non présentées), et nous avons retrouvé que ce trait HR/LR ne détermine pas la vulnérabilité des animaux. Ainsi, nous n'avons pas retrouvé la sensibilisation mise en évidence sur les LR. Une des explications possibles pourrait être le changement de fournisseur d'animaux entre ces deux expérimentations. Nous avons constaté que les animaux de notre nouveau fournisseur sont globalement plus anxieux et que le taux d'animaux vulnérables qui était autour de 33% dans les premières expériences, est passé à 50% avec ce nouveau fournisseur. Ce facteur suffit-il à expliquer le fait que l'on n'observe plus de sensibilisation chez rats LR ? Seules des études complémentaires permettraient de le démontrer. Par ailleurs, il se pourrait que le trait LR-HR varie au cours du temps et qu'il ne soit pas systématiquement lié à des sensibilisation/désensibilisation comportementales puisque dans une autre étude effectuée dans l'équipe, les auteurs notaient une tendance à la sensibilisation pour les LR et pas de désensibilisation pour les HR (Toledano and Gisquet-Verrier, 2014). La relation entre le trait de réactivité à la nouveauté et la sensibilisation comportementale après SPS reste donc à clarifier.

### 2.3. Relations entre sensibilisation neurochimique et désensibilisation/sensibilisation comportementale

Les travaux de l'équipe de J.P. Tassin montrent clairement que sensibilisation corticale à la noradrénaline obtenue après des injections répétées de drogues d'abus est liée

la sensibilisation comportementale (Salomon et al., 2006; Tassin, 2008). Notre hypothèse propose que les dérégulations entraînées par l'exposition à un traumatisme sont comparables à celles induites par les drogues d'abus. Pourtant, si nos résultats montrent bien qu'un traumatisme entraîne, chez les animaux traumatisés vulnérables, une sensibilisation noradrénergique corticale, celle-ci s'accompagne d'une désensibilisation comportementale. Trois questions se posent alors : (1) dans quelles conditions observe-t-on des désensibilisations ? (2) Dans cette étude, la sensibilisation neurochimique des rats traumatisés vulnérables est-elle liée à la désensibilisation comportementale? Et (3) comment peut-on interpréter cette désensibilisation ?

### **1- Désensibilisations comportementales**

Deux études rapportent des désensibilisations comportementales après des injections répétées de drogue, et mentionnent l'implication d'un trait concernant la réactivité à la nouveauté ( Alttoa et al., 2007; Scholl et al., 2009). Alttoa et collaborateurs montrent qu'un test à l'amphétamine effectué plus d'une semaine après des injections répétées d'amphétamine (0.5 mg/kg, pendant 5 jours) conduit à une sensibilisation comportementale chez des animaux comparables à des LR, et à une désensibilisation comportementale chez des animaux comparables à des HR. Pour l'étude de Scholl et collaborateurs, un test à l'amphétamine délivré 15 jours après les injections répétées (amphétamine : 2.5mg/kg, pendant 6 jours) permet de mettre en évidence une désensibilisation comportementale chez les animaux comparables aux HR. Comme nous l'avons mentionné, des études préalables, réalisées dans le laboratoire ont montré que des rats LR développent une sensibilisation comportementale, alors que les HR développent une désensibilisation locomotrice (Toledano et al., 2013). Les données obtenues dans ce travail indiquent que les HR, et les vulnérables présentent une désensibilisation, alors qu'il n'y a qu'un recouvrement de 50% entre ces deux populations. Dans le cas des vulnérables, cette désensibilisation s'accompagne d'une augmentation de la libération de NA au niveau cortical en réponse à une stimulation du système noradrénergique. Nos données ne sont pas uniques. En effet, dans une étude récente, une équipe travaillant avec le modèle du SPS a récemment montré une désensibilisation comportementale chez les animaux traumatisés, en réponse à une injection de cocaïne (20mg/kg), utilisé comme psychostimulant (Eagle et al., 2015).

Ainsi, plusieurs études indiquent des désensibilisations observées soit après l'injection répétée de drogue (Alttoa et al., 2007; Scholl et al., 2009), soit après un traumatisme (Toledano et al., 2013; Eagle et al., 2015). Nos données sont les seules à montrer que la désensibilisation après un traumatisme chez les rats vulnérables, est également associée à une sensibilisation neurochimique.

## **2- Relation entre désensibilisation comportementale et sensibilité neurochimique**

Le lien entre sensibilisation neurochimique et sensibilisation comportementale a été établi par l'équipe de Tassin chez des souris exposées répétitivement à des drogues d'abus (Tassin 2008). En l'état actuel, nos données ne nous permettent pas de déterminer si sensibilisation noradrénergique et désensibilisation comportementale sont liées ou non. Nous n'avons pu seulement montrer des caractéristiques présentes sur une même population : les vulnérables. Bien que le parallélisme avec les données obtenues chez la souris, après plusieurs expositions à des drogues d'abus, laisse penser que ces sensibilisation/désensibilisations sont liées, il faudrait pouvoir mesurer en même temps la locomotion et les libérations de monoamines pour le confirmer. Un de nos résultats constitue cependant un argument permettant d'aller dans ce sens. Lorsque l'activation du système monoaminergique est induite par l'exposition à un indice associé au traumatisme, les animaux montrant une désensibilisation comportementale en réponse à une injection d'amphétamine, montrent une sensibilisation comportementale. Dans cette étude, il semble qu'une activation faible du système noradrénergique (par les indices) induit une sensibilisation, alors qu'une activation forte (par amphétamine) induit une désensibilisation. Sur la base de ces données, nous proposons que la désensibilisation comportementale correspond à la réponse associée à une libération excessive de noradrénaline corticale.

## **3- Origine de ces désensibilisations**

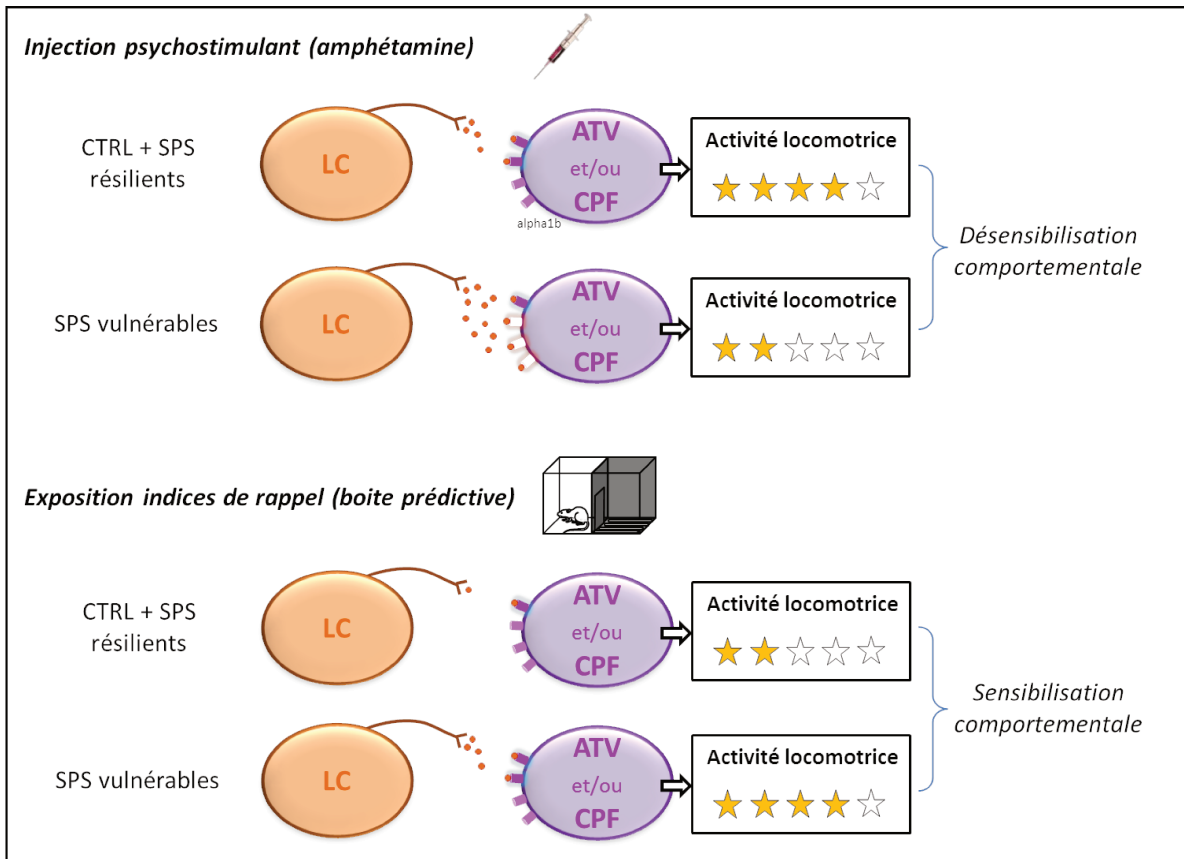
Compte tenu du fait que la sensibilisation comportementale dépend de la libération de dopamine au sein du noyau accumbens, l'ensemble des auteurs ayant montré des désensibilisations s'accorde à considérer qu'elles sont sous-tendues par des diminutions de la libération de dopamine. Bien que les causes de ces diminutions ne sont pas très explicites, il a été montré, chez ces animaux désensibilisés, une diminution d'activité protéique des récepteurs D2 (Alttoa et al., 2007), ainsi qu'une diminution du taux de dopamine dans le striatum dorsal (Scholl et al., 2009). Ces auteurs proposent alors un rôle de la neurotransmission dopaminergique au niveau du noyau accumbens, et plus particulièrement



des récepteurs/transporteurs dopaminergiques. Une diminution de la densité de ces récepteurs ou de leur fonctionnalité, ou une diminution de taux de dopamine pourrait en effet conduire à une diminution de la transduction du signal, responsable de la désensibilisation comportementale observée. Par ailleurs, une diminution de la libération de glutamate provenant du CPFm a été mise en évidence après exposition au SPS (Knox et al., 2010), ce qui pourrait rendre compte des désensibilisations comportementales obtenues dans notre modèle animal (Eagle et al., 2015). Une désensibilisation des récepteurs noradrénergiques post synaptiques, tels que les alpha1b pourrait alors prendre place après le SPS, alors même que les libérations de NA en réponse à un psychostimulant sont plus élevées, expliquant ainsi les diminutions de dopamine dans le NAc et par conséquent la désensibilisation locomotrice. Cette hypothèse est également supportée par le fait que des dérégulations de la neurotransmission entre cortex préfrontal et noyau accumbens ont également été obtenues avec des modèles d'addiction à la cocaïne et à la méthamphétamine (pour revue Kalivas, 2004), malgré des augmentations de libération de noradrénaline (Lanteri et al., 2008).

Un tel processus permettrait de lier sensibilisation neurochimique et sensibilisation/désensibilisation comportementale. En cas de faible stimulation du système noradrénergique, comme après l'exposition à un indice de rappel, une sensibilisation comportementale serait observée, alors qu'en cas de forte stimulation, comme avec une injection d'amphétamine, une désensibilisation prendrait place (figure 18).

Pour vérifier cette hypothèse, il serait nécessaire de mesurer parallèlement les taux de noradrénaline dans le CPFm, et les taux de dopamine dans le NAc. Pour répondre à cette question, j'ai effectué des doubles microdialyses, visant ces deux structures sur un même animal. Les échantillons n'ont pas encore pu être quantifiés à ce jour. Leur analyse devrait permettre de corrélérer chez les mêmes animaux, les libérations de noradrénaline dans le CPFm et de dopamine dans le noyau accumbens, et d'apporter ainsi une réponse à nos hypothèses. L'analyse ultérieure de la fonctionnalité des récepteurs alpha1b post synaptique du CPF et/ou de l'ATV serait alors nécessaire à la compréhension de ce phénomène.



**Figure 18 : hypothèse des liens entre sensibilisation noradrénergique et comportementale**

Une injection d'amphétamine conduit à la libération importante de noradrénaline, conduisant à une augmentation de l'activité locomotrice. Cependant, pour des animaux traumatisés vulnérables, la libération de noradrénaline est exacerbée, mais suite à des désensibilisations des récepteurs alpha1b noradrénergique, on observe une activité locomotrice moins importante, ie une désensibilisation comportementale. Après l'exposition à un indice de rappel, la libération de noradrénaline chez des individus contrôles est limitée, n'induisant qu'une faible activité locomotrice. La libération de noradrénaline étant plus importante chez les vulnérables, mais étant insuffisante à l'induction d'une désensibilisation des récepteurs alpha1b, on observe une locomotion plus importante que chez les contrôles, ie une sensibilisation comportementale.

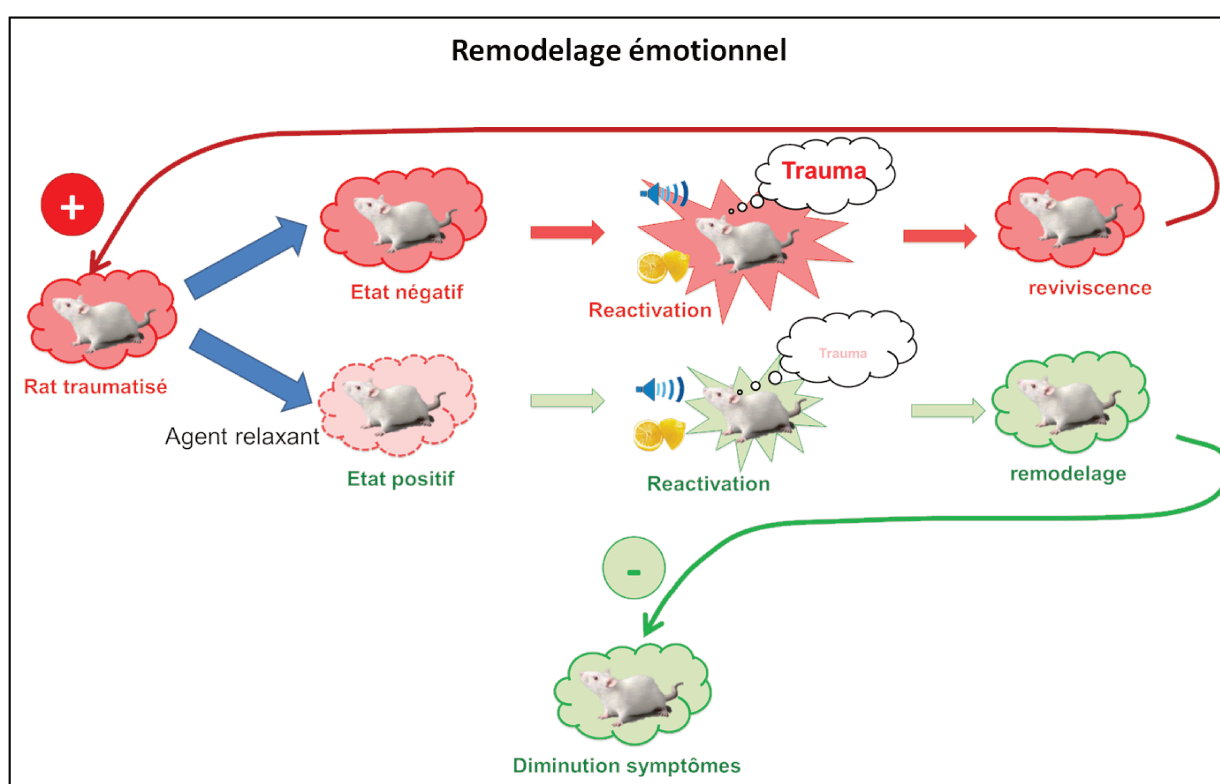
### 3. Tentatives thérapeutiques

#### 3.1. Remodelage émotionnel

##### 3.1.1. Principe et données chez l'animal

Un certain nombre de données indique qu'un souvenir actif (juste après l'apprentissage ou la réactivation) est malléable et peut intégrer de nouvelles informations (Schiller et al., 2010; Gisquet-Verrier and Riccio, 2012), et notamment des informations contextuelles (Briggs and Riccio, 2008; Lee, 2010; Gisquet-Verrier et al., 2015). On sait qu'un changement de contexte (concernant soit la pièce expérimentale ou le dispositif, soit le

contexte interne) entre apprentissage et test de rétention induit des perturbations de performance. Plusieurs études montrent que l'exposition au nouveau contexte, soit juste après l'apprentissage, soit lors de la réactivation de cet apprentissage peut prévenir l'effet perturbateur d'un changement de contexte, suggérant que le contexte présenté lorsque la trace est active, a été intégré au souvenir initial (voir Gisquet-Verrier et al., 2015). Sur la base de ces données, nous avons envisagé la possibilité d'intégrer une nouvelle valence émotionnelle à un souvenir. Le principe du remodelage émotionnel est de modifier l'état émotionnel d'un sujet, grâce à un agent pharmacologique, avant de réactiver un souvenir traumatique. La valence émotionnelle du souvenir réactivé va ainsi être modifiée et va pouvoir être intégrée au souvenir initial.



**Figure 19 : principe du remodelage émotionnel pour le TSPT**

Schéma de l'hypothèse de remodelage émotionnel des souvenirs chez des animaux traumatisés. La réactivation du traumatisme induit des reviviscences incluant son versant émotionnel qui renforce la pathologie (ligne rouge). Lorsque la réactivation est réalisée alors que le sujet est placé dans un état positif, grâce à un agent pharmacologique, la composante émotionnelle réactivée est affaiblie. Grâce à la malléabilité des souvenirs réactivés, cette nouvelle valence émotionnelle est intégrée au souvenir du traumatisme induisant un remodelage émotionnel du souvenir traumatique entraînant la diminution des symptômes de TSPT.

Nos données montrent qu'il est possible d'amplifier ou diminuer les symptômes de type TSPT en fonction des conditions d'injections d'amphétamine. De plus, avec un remodelage à l'ocytocine, nous avons obtenu une diminution significative des symptômes et des taux de vulnérabilité au traumatisme. Nous proposons ainsi que la modification de l'état émotionnel de l'individu avant de réactiver la trace mnésique de l'apprentissage (ici le traumatisme) permet d'intégrer cet état émotionnel au souvenir initial, et ainsi le modifier.

Les données obtenues sur l'ocytocine sont extrêmement intéressantes et prometteuses. Des expériences complémentaires devraient nous permettre d'explorer les conditions optimales d'un tel traitement. Il convient notamment d'explorer l'effet de différentes doses, et l'incidence du nombre de traitements délivrés en association avec des réactivations induites par des indices de rappel différents. Plus largement, il serait intéressant de préciser les conditions permettant la malléabilité des souvenirs et de déterminer si la nouvelle information se substitue à l'information précédente ou si elle la complète. Il faudrait également préciser les conséquences d'un traumatisme à un niveau cellulaires et moléculaires. Une collaboration avec M Ammassari-Teule (CNR, Rome) a récemment débuté. Cette collaboration vise à étudier les modifications des densités d'épines dendritiques à la suite d'un traumatisme au sein du réseau structural impliqué par cette pathologie et à déterminer si le remodelage émotionnel qui permet d'abolir les symptômes, est également capable de normaliser les modifications dendritiques. Les analyses de cette études sont actuellement en cours. Il serait également extrêmement intéressant de déterminer si le remodelage émotionnel permet un recouplage des systèmes monoaminergiques. Pour cela, il conviendrait de rechercher les taux de libération de noradrénaline en réponse à une injection d'amphétamine après un remodelage émotionnel.

### **3.1.2. Le remodelage émotionnel chez l'homme**

Le remodelage émotionnel constitue une approche thérapeutique novatrice, facile à mettre en place, peu coûteuse et d'une grande efficacité. Les premières applications à l'homme ont déjà été réalisées, en collaboration avec une équipe de cliniciens, au sein du service de Psychiatrie de l'hôpital St Antoine. Il s'agit pour l'instant d'études de cas.

La première étude a été réalisée sur un patient cocaïnomanie en appui à des séances de thérapies cognitivo-comportementales. Dans un premier temps, le patient a rapporté toutes les conditions conduisant à la réactivation du désir intense de cocaïne (craving). Dans un second temps, le patient a reçu, deux heures avant une séance de thérapie

comportementale, du propranolol, un antagoniste des récepteurs bêta-adrénergiques (80 mg per os) connu pour être un anxiolytique non sédatif. Au cours de la séance, le thérapeute évoque les différents indices de rappel induisant la réactivation du désir de drogue, alors que le sujet est dans un état émotionnel modifié. Grâce au propranolol, les réactivations du désir de drogue ont une intensité moindre. Cette réaction émotionnelle réduite va s'intégrer au souvenir du traumatisme réactivé et modifier la valence émotionnelle du souvenir pathologique. Après 10 séances hebdomadaires de réactivations multiples du désir de drogue sous propranolol, le « craving » a progressivement disparu. Le sujet est devenu abstinent à partir de la 5<sup>ème</sup> séance et son abstinence (établie par tests urinaires) a perduré pendant la période de suivi qui a duré plus de 4 années, suggérant des effets durables du remodelage émotionnel (Chopin et al., 2016).

La seconde étude, non encore publiée, a été réalisée sur des patientes atteintes de TSPT, en utilisant l'ocytocine délivrée par spray nasal, pour le remodelage émotionnel. Le traitement suit les mêmes étapes : établissement de toutes les conditions susceptibles de provoquer des reviviscences, puis traitement associant ocytocine (40 IU) délivrée 90 minutes avant le début de la séance de thérapie cognitivo-comportementale au cours de laquelle sont évoquées les situations déclenchant des reviviscences. Le traitement a révélé son efficacité dès la troisième séance. L'état des patientes s'est rapidement amélioré et l'effet bénéfique a perduré pendant la période de suivi qui est pour l'instant de plus de 6 mois.

Ces données sont encore très préliminaires et très partielles, mais l'efficacité du traitement et la simplicité de sa mise en œuvre devrait permettre son développement prochain, ce qui permettra de déterminer de façon objective son efficacité et de sa durabilité.

### **3.1.3. Remodelage ou perturbation de la reconsolidation ?**

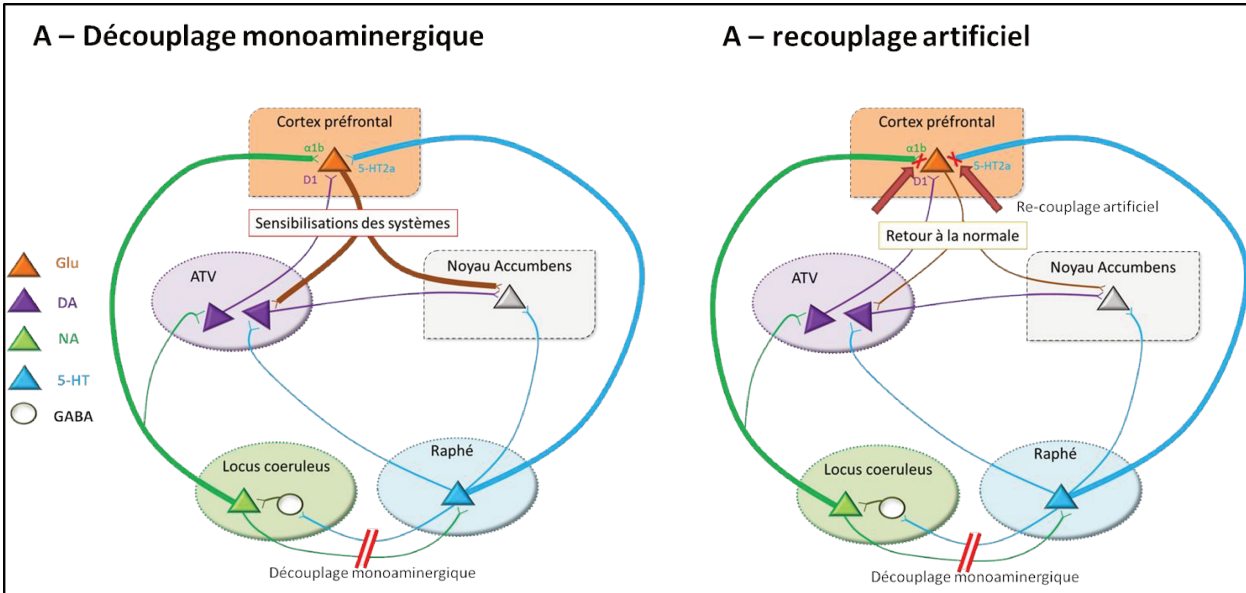
Nous avons mentionné dans l'introduction, le développement de nouvelles approches expérimentales, proches du remodelage émotionnel, mais dont le but était différent, puisqu'il s'agissait de perturber la reconsolidation du souvenir traumatique après sa réactivation. Nous avons aussi mentionné les résultats contradictoires obtenus avec le propranolol comme traitement du TSPT tant chez l'animal (Muravieva and Alberini, 2010; Debiec and Ledoux, 2004), que chez l'homme (Brunet et al., 2008; Tollenaar et al., 2009). Les données les plus récentes indiquent que le propranolol semble avoir une efficacité plus

prononcée lorsque le produit est délivré avant la réactivation de la trace mnésique, alors qu'il était délivré après, dans les premières études. Des améliorations des symptômes chez 50% des sujets traités avec une injection de propranolol 90 minutes avant de réactiver le souvenir, contre 7% chez les non traités ont été rapportées (Brunet et al., 2011). Les dernières études préconisent de délivrer plusieurs séances de traitement au propranolol. De plus, on a remarqué que ce traitement qui en théorie devrait perturber la rétention du souvenir du traumatisme, en empêchant sa reconsolidation, ne joue que sur la composante émotionnelle du sujet. Toutes ces modifications font que le propranolol est maintenant délivré dans les conditions que nous utilisons pour le remodelage émotionnel. Il est donc très probable que ce traitement induit un effet bénéfique sur le TSPT par le biais d'un remodelage émotionnel, grâce à ses vertus d'anxiolytique non sédatif, plutôt qu'en bloquant une potentielle phase de reconsolidation, par des mécanismes qui n'ont jamais été élucidés.

### 3.2. Recouplage pharmacologique des systèmes monoaminergiques

Si le TSPT induit bien un découplage des systèmes monoaminergiques, une voie thérapeutique à considérer est le recouplage de ces systèmes. Tassin et collaborateurs ont récemment rapporté des données suggérant un recouplage dans un modèle animal de dépendance à l'alcool. Ces auteurs suggèrent que comme la suractivation des récepteurs adrénergiques  $\alpha_1b$  et sérotoninergiques 5-HT<sub>2A</sub> est impliquée dans le découplage, l'administration conjointe d'antagonistes de ces deux types de récepteurs devrait bloquer l'hyperréactivité des systèmes noradrénergiques et sérotoninergiques lors de leur sollicitation et permettre le recouplage (Fig.20). Leur première étude, indique que l'emploi conjoint d'ifenprodil et de cyproheptadine, des antagonistes  $\alpha_1b$  et 5-HT<sub>2A</sub> respectivement, délivrés aux mêmes doses (1mg/kg), sur des souris rendues dépendante à l'alcool leur permet d'abandonner très rapidement le biberon contenant de l'alcool, alors que l'emploi d'un seul de ces deux antagonistes n'a pas d'effet (Trovero et al., 2016). Les auteurs concluent que ce traitement qui bloque la réactivité des systèmes monoaminergiques permet de recoupler durablement les deux systèmes permettant ainsi de prévenir la prise d'alcool. Cette nouvelle approche thérapeutique est actuellement en voie de développement pour être utilisée chez l'homme.

Selon les données obtenues dans cette thèse, l'utilisation de ce même traitement, ciblant ces deux types de récepteurs, devrait également diminuer les symptômes de type TSPT chez nos rats traumatisés vulnérables.



**Figure 20 : hypothèse du découplage et cibles du recouplage monoaminergique**

Schéma expliquant (A) l'hypothèse de découplage monoaminergique et (B) la possibilité de recoupler artificiellement ces systèmes pour un traitement thérapeutique. A. La perte d'autocontrôle entre les systèmes noradrénergique via le locus coeruleus et sérotoninergique via le raphé induit une libération massive de ces neurotransmetteurs au sein du cortex préfrontal. B. L'action combinée d'antagonistes des récepteurs alpha1 adrénrgiques et 5-HT2A sérotoninergiques permettrait de recoupler artificiellement ces systèmes réduisant les libérations excessives de neurotransmetteurs au sein du cortex préfrontal.

### III - Conclusion

Le sujet de cette thèse est basé sur les ressemblances entre TSPT et dépendance aux drogues d'abus. L'hypothèse propose que l'exposition à des événements hors normes (traumatisme ou drogue) induit un découplage des systèmes monoaminergiques qui a comme conséquence de créer une hyper réactivité aux indices environnementaux, responsables des reviviscences qui caractérisent ces deux pathologies. Ces reviviscences seraient à l'origine de la plupart des symptômes résultant du traumatisme, du maintien à long terme de la pathologie et de sa susceptibilité aux rechutes.

Les résultats obtenus dans ce travail, résumés dans la figure 21, apportent un soutien important à cette hypothèse de départ, bien qu'un certain nombre de points restent encore à explorer avant de la valider définitivement.

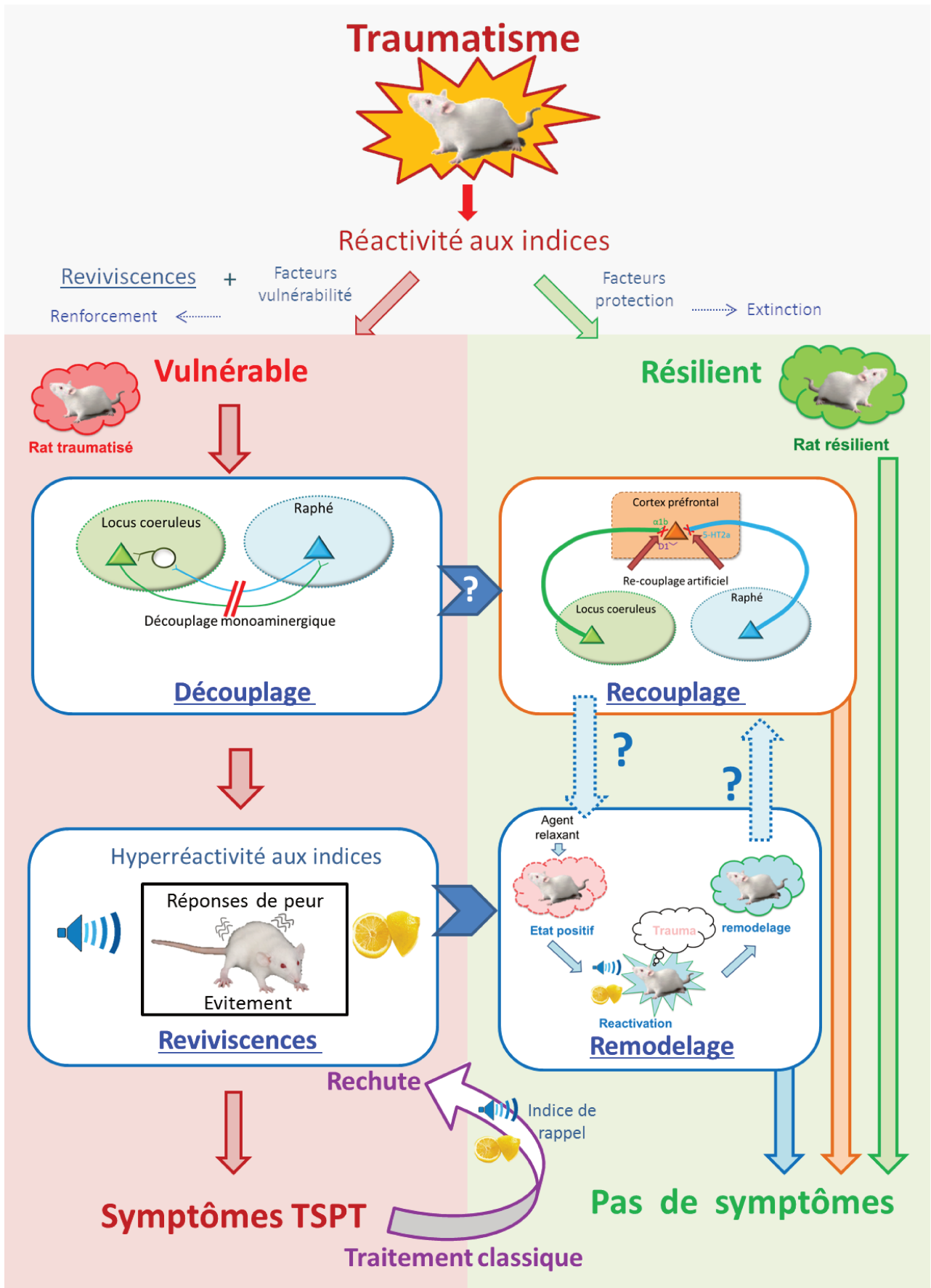
Nos données montrent que peu après un traumatisme, tous les animaux réagissent aux indices associés à cet épisode. A plus long terme, seule une partie des animaux traumatisés va continuer à manifester des réactions de peur à ces indices, témoignant des difficultés d'extinction chez ces animaux. Nous avons montré que ce sont les mêmes animaux qui vont développer des symptômes de type TSPT, indiquant que vulnérabilité et réactivité aux indices associés au traumatisme sont liés. Nous avons souligné que la réactivité aux indices était relativement faible en terme quantitatif, cependant nos données montrent que les réactions de peur sont obtenues pour quasiment tous les indices proposés, alors qu'elles ne sont pas observées chez les animaux traumatisés résilients. De plus nous avons montré qu'après extinction des réactions de peur à ces indices, la peur pouvait être restaurée, soit après l'administration d'un stress, soit après la stimulation du système noradrénergique. Enfin, nos données indiquent que des expositions répétées à des indices pouvaient renforcer les symptômes, indiquant leur rôle possible dans le développement de la pathologie et dans l'émergence de certains symptômes. Les tests comportementaux pratiqués avant le traumatisme, nous ont permis d'établir par des analyses en retour, que la vulnérabilité est liée à l'anxiété initiale des sujets puisque 80% des animaux classés comme anxieux font partie des vulnérables. Par contre, la réactivité à la nouveauté ne constitue pas un facteur prédictif.



Nos résultats ont permis de montrer que l'exposition à un traumatisme induit une sensibilisation des neurones noradrénergiques du cortex préfrontal médian et que cette sensibilisation est spécifique des rats vulnérables. Ces données sont importantes car elles montrent pour la première fois un lien entre vulnérabilité au traumatisme et réactivité noradrénergique, constituant ainsi un argument décisif en faveur de notre hypothèse. Aussi décisif qu'il soit, ce résultat ne permet pas de démontrer l'existence d'un découplage des systèmes monoaminergique après un traumatisme. Il reste encore à démontrer que des résultats comparables peuvent être obtenus avec le système sérotoninergique. Pour l'instant, le parallélisme entre nos données et celles rapportées chez la souris après des injections répétées de drogue, ainsi que certaines données de la littérature, sont les seuls éléments disponibles en faveur de la possibilité d'obtenir de tels résultats.

Alors que nous attendions une sensibilisation comportementale chez les animaux traumatisés vulnérables, nos données ont montré une désensibilisation comportementale, lorsque l'activation du système noradrénergique était induite par une injection d'amphétamine. Des résultats comparables ont été préalablement obtenus par l'équipe après injections répétées de psychostimulant. Cependant, nos données ont également montré que, lorsque l'activation du système noradrénergique était induite par une exposition à des indices de rappel, une sensibilisation transitoire était obtenue. De tels résultats ont aussi été rapportés après injections répétées d'amphétamine. Nous avons donc émis l'hypothèse que la désensibilisation constatée chez les animaux vulnérables pouvait être due à une stimulation trop importante du système noradrénergique et nous avons proposé un mécanisme pouvant rendre compte des résultats obtenus. Cette hypothèse reste à être vérifiée, tout comme l'existence de liens directs entre sensibilisation neurochimique et désensibilisation/sensibilisation comportementale.

Ce travail apporte également des données sur de nouvelles pistes thérapeutiques directement issues de notre hypothèse de départ, et pouvant être mises en œuvre rapidement chez l'homme. Deux approches ont été proposées. Celle du recouplage est actuellement explorée avec succès par l'équipe de JP Tassin, et son efficacité dans un modèle de TSPT reste à démontrer. Nous nous sommes intéressées à une autre piste, celle



**Figure 21 : Bilan des effets d'un traumatisme et des traitements possibles**

du remodelage émotionnel, visant à modifier la composante émotionnelle de souvenirs pathologiques afin de diminuer la saillance des indices de rappel associés à ce souvenir. Le remodelage émotionnel se base sur la malléabilité des souvenirs induite par leur réactivation, pour introduire dans ce souvenir de nouvelles informations de nature émotionnelle. Nous avons montré qu'un même traitement, induisant des effets anxiogéniques ou anxiolytiques suivant ses conditions d'application, pouvait soit renforcer soit diminuer les symptômes de type TSPT. Dans une seconde étude, nous avons réalisé un remodelage émotionnel avec de l'ocytocine et montré que ce traitement, associé à la réactivation du traumatisme, était capable d'abolir la plupart des symptômes et de réduire notablement le taux de vulnérabilité des individus traumatisés. Beaucoup reste à faire pour vérifier l'efficacité à long terme du remodelage émotionnel ainsi que sa résistance au stress et à la présentation d'indices de rappel. Cependant, les quelques essais thérapeutiques réalisés sur la dépendance aux drogues d'abus et sur le TSPT chez l'homme ont montré son efficacité et suggèrent que ce traitement a un potentiel intéressant qui doit être développé dans le futur.

# ANNEXES

## **Annexe 1 : Publication n°6**

---

### **Bases physiologiques communes pour les troubles de stress post traumatiques et dépendance aux drogues d'abus.**

---

*Pascale Gisquet-Verrier, Daniel Toledano, Claire Le Dorze*

2016, Thérapie



Disponible en ligne sur

**ScienceDirect**  
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France

**EM|consulte**  
www.em-consulte.com



## ADDICTOVIGILANCE

# Bases physiologiques communes pour les troubles de stress post-traumatique et la dépendance aux drogues d'abus : conséquences pour de nouvelles approches thérapeutiques

*Common physiological basis for post-traumatic stress disorder and dependence to drugs of abuse: Implications for new therapeutic approaches*

**Pascale Gisquet-Verrier\*, Daniel Tolédano,  
Claire Le Dorze**

*Neuro-PSI, CNRS UMR 9197, université Paris-Sud, université Paris-Saclay, 91400 Orsay, France*

Reçu le 1<sup>er</sup> avril 2016 ; accepté le 29 juillet 2016

### MOTS CLÉS

TSPT ;  
Addiction aux  
drogues d'abus ;  
Comorbidité ;  
Remodelage  
émotionnel de la  
mémoire ;  
Découplage des  
systèmes  
monoaminergiques

**Résumé** Les troubles de stress post-traumatique (TSPT) et la dépendance aux drogues d'abus sont deux pathologies qui présentent un fort taux de comorbidité. Cette revue présente un certain nombre d'arguments montrant des ressemblances entre TSPT et dépendance aux drogues et notamment l'hyper-réactivité aux éléments de l'environnement qui se traduit par une réactivation des souvenirs cibles, conduisant soit à des reviviscences (TSPT), soit à des envies irrépessibles de drogue. Ainsi TSPT et dépendance aux drogues d'abus pourraient être des pathologies de la mémoire, reposant sur le dérèglement d'un même processus physiologique. Nous proposons que ces pathologies résultent d'un découplage des systèmes monoaminergiques. Cette revue explique les fondements de notre hypothèse et présente les résultats expérimentaux obtenus chez l'animal. Cette nouvelle conception permet d'envisager de nouvelles approches thérapeutiques qui ont été expérimentées pour ces deux pathologies chez l'animal et chez l'homme et dont les premiers résultats s'avèrent extrêmement encourageants.  
© 2016 Société française de pharmacologie et de thérapeutique. Publié par Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

\* Auteur correspondant. Neuro-PSI, CNRS UMR 9197, Paris Saclay institute of neurosciences, université Paris-Sud, bâtiment 446, 91405 Orsay cedex, France.

Adresse e-mail : [pascale.gisquet@u-psud.fr](mailto:pascale.gisquet@u-psud.fr) (P. Gisquet-Verrier).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.therap.2016.07.005>

0040-5957/© 2016 Société française de pharmacologie et de thérapeutique. Publié par Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

## KEYWORDS

PTSD;  
Drug addiction;  
Comorbidity;  
Emotional memory remodeling;  
Uncoupling of monoaminergic systems

**Summary** Post-traumatic stress disorder (PTSD) and addiction to drugs of abuse are two common diseases, showing high comorbidity rates. This review presents a number of evidence showing similarities between these two pathologies, especially the hyper-responsiveness to environmental cues inducing a reactivation of the target memory leading either to re-experiencing (PTSD), or drug craving. Accordingly, PTSD and addiction to drug of abuse might be considered as memory pathologies, underlined by the same physiological process. We propose that these two pathologies rely on an uncoupling of the monoaminergic systems. According to this hypothesis, exposure to extreme conditions, either negative (trauma) or positive (drugs) induced a loss of the reciprocal control that one system usually exerts on the other monoaminergic system, resulting to an uncoupling between the noradrenergic and the serotonergic systems. Results obtained in our laboratory, using animal models of these pathologies, demonstrate that after a trauma, such as after repeated drug injections, rats developed both a behavioral sensitization (increases of the locomotion in response to a stimulation of the monoaminergic systems) and a pharmacological sensitization (increases of noradrenergic release within the prefrontal cortex). These results support our hypothesis and led us to propose new and innovative therapeutic approaches consisting either to induce a re-coupling of the monoaminergic systems, or to modify the pathological memories by using an emotional memory remodeling. Extremely encouraging results have already been obtained in rats and in humans, opening new and promising therapeutic avenues.

© 2016 Société française de pharmacologie et de thérapeutique. Published by Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

## Abréviations

DSM-5 *diagnostic and statistical manual of mental disorders*

TSPT trouble de stress post-traumatique

## Introduction

Le trouble de stress post-traumatique (TSPT) est une pathologie complexe qui se développe chez une partie des individus ayant été exposés à un traumatisme grave menaçant la vie de l'individu (attentat, guerre, agression, viol). C'est une pathologie lourde et de longue durée qui se caractérise par des reviviscences fréquentes du traumatisme, des perturbations du sommeil, un repli social et des modifications de l'humeur.

La dépendance aux drogues d'abus survient, chez certaines personnes, à la suite d'une consommation répétée d'une substance psychoactive. Elle se caractérise par un désir puissant de prendre la substance, des difficultés à contrôler la consommation, la poursuite de la consommation malgré les conséquences nocives, un désinvestissement progressif des autres activités et obligations, au profit de cette substance, une tolérance accrue et la survenue de symptômes de sevrage en cas d'absence de la substance.

Bien que d'étiologies très différentes, ces pathologies reposent toutes deux sur un souvenir central récurrent et elles présentent de nombreuses ressemblances qui nous ont conduit à les analyser comme des pathologies de la mémoire

qui pourraient reposer sur des dérégulations de processus biologiques comparables.

Cet article se propose de présenter les arguments qui nous ont conduit cette hypothèse, à la détailler, à présenter nos données soutenant cette hypothèse et à envisager de nouvelles approches thérapeutiques.

## Troubles de stress post-traumatique et dépendance aux drogues d'abus : de nombreux points communs

TSPT et dépendance aux drogues d'abus présentent de nombreuses caractéristiques communes :

- leur origine est parfaitement connue, ce qui est rare dans la sphère des troubles psychiatriques ;
- elles résultent de l'exposition à des événements extrêmes, hors normes : très négatives (stress intense) pour le traumatisme et très positives (plaisir intense) en ce qui concerne les drogues d'abus ;
- chacune de ces pathologies ne se développe que sur une partie de la population exposée. Dans les deux situations, le pourcentage des sujets vulnérables est similaire, de 8 à 35 % des sujets exposés selon les études [1,2]. Le reste de la population, dite résiliente, ne se distingue que très peu de la population non exposée ;
- dépendance et TSPT partagent un certain nombre de symptômes (*diagnostic and statistical manual of mental disorders* [DSM-5]) comme l'augmentation de l'anxiété, des troubles du sommeil, une perte d'intérêt pour des

- activités autrefois pratiquées, un émoussement affectif, un comportement irritable voire autodestructeur, une hyper-vigilance et une modification de la réponse de sursaut, des troubles de la concentration, un isolement social ainsi qu'un défaut d'inhibition du comportement [3,4] ;
- dépendance et TSPT partagent également des facteurs de risques, comme la charge de stress supportée au cours de la vie, la tendance à ressentir des affects négatifs ou encore souffrir d'une autre affection psychiatrique [5,6]. De plus, le polymorphisme du gène codant pour le récepteur D2 est associé au TSPT ainsi qu'à la dépendance aux drogues [7,8] ;
  - dépendance et TSPT impliquent également certaines bases neurobiologiques communes comme l'hyperactivité du système noradrénergique [9,10], l'implication du système dopaminergique [11,12], de l'axe corticotrope [13,14], du complexe amygdalien et du cortex préfrontal [15,16] ;
  - aucune thérapie ne s'est montrée jusqu'à présent réellement efficace pour ces deux pathologies. Dans les deux cas, les antidépresseurs souvent associés à des thérapies cognitivo-comportementales [17,18] constituent le traitement le plus classique. L'utilisation d'antagonistes du système noradrénergique semble avoir une certaine efficacité dans l'amélioration des symptômes de ces deux pathologies [9,19] ;
  - les patients sont sujets à de fréquentes rechutes pouvant intervenir même après une amélioration durable des symptômes pour le TSPT, ou après une période d'abstinence prolongée dans le cas de la dépendance [20,21] ;
  - une caractéristique commune et centrale entre TSPT et dépendance est l'hypersensibilité aux stimuli liés aux sources même de la pathologie que sont le traumatisme ou la prise de drogue [22]. Les individus souffrant de TSPT évitent les stimuli ou situations associés au traumatisme parce qu'ils induisent des reviviscences au cours desquelles le sujet revit le traumatisme avec une réelle acuité. Ce symptôme pourrait être à l'origine de beaucoup d'autres comme augmentation de l'anxiété, troubles du sommeil, évitement des situations susceptibles d'induire ces reviviscences, émoussement social et hyper-vigilance. L'hypersensibilité aux indices est également fondamentale dans la symptomatologie générale de la dépendance. Les individus dépendants décrivent très bien le désir irrésistible et incontrôlable de drogue (ou *craving*) qui peut être induit par la présence de stimuli évoquant la prise de drogue, et la nécessité d'éviter de rencontrer de tels indices. Dans les deux situations, les indices associés à l'événement peuvent précipiter les rechutes ;
  - il existe une forte comorbidité<sup>1</sup> entre ces deux pathologies : de l'ordre de 40 % pour les individus TSPT devenant dépendants, et pour des sujets dépendants développant un TSPT [23].

<sup>1</sup> Occurrence chez la même personne d'un trouble de stress post-traumatique et d'un problème dû à la consommation d'une substance psychoactive.

## Comorbidité entre trouble de stress post-traumatique et dépendance aux drogues d'abus

Plus de 90 % des personnes atteintes de TSPT ont présenté, au moins une fois dans leur vie, d'autres troubles psychiques dont les plus fréquents sont la dépression majeure et l'abus de substance psychoactive. Plus de 52 % des hommes et 28 % des femmes présentant un TSPT sont touchés par la dépendance à des substances comme l'alcool ou diverses drogues d'abus [2,24]. Les patients dépendants développent dans les mêmes proportions, des TSPT (30 à 59 % [25,26]). Les patients présentant une comorbidité développent généralement des symptômes plus sévères que ceux touchés par une seule pathologie [25]. Plusieurs explications qui ne sont d'ailleurs pas mutuellement exclusives, ont été proposées pour rendre compte de cette comorbidité.

L'hypothèse de l'automédication qui est la plus ancienne, postule que la prise de substance résulte de tentatives individuelles entreprises pour calmer les symptômes et la détresse engendrés par le TSPT, face à l'inefficacité des traitements.

L'hypothèse des hauts risques propose que la comorbidité résulte d'un trait particulier conduisant les sujets à adopter des conduites à risques qui les entraînent à essayer les drogues d'abus et à se placer dans des situations pouvant conduire à des traumatismes [27,28].

L'hypothèse de la susceptibilité postule que les individus qui consomment des substances psychoactives sont également celles les plus susceptibles de développer un TSPT parce que leurs mécanismes de défense présentent des faiblesses [26,29,30].

D'après l'hypothèse de facteurs communs, les deux pathologies TSPT et dépendance partagent des précurseurs communs comme des expositions préalables à des événements traumatisants [31,32].

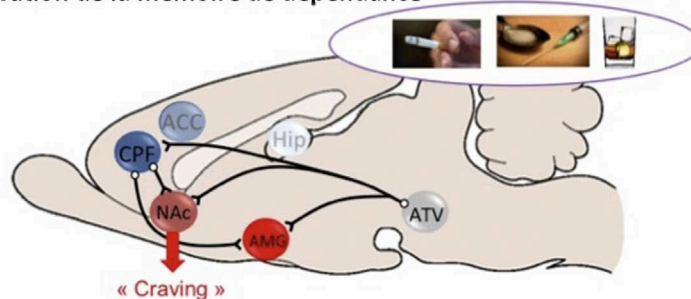
Aucune de ces hypothèses n'est à elle seule responsable de la comorbidité et toutes ont sans aucun doute une incidence sur elle. Chacune d'entre elles a reçu des appuis expérimentaux [33,34], suggérant qu'une combinaison complexe de facteurs contribue à la comorbidité entre TSPT et dépendance.

## Bases neurobiologiques communes entre TSPT et dépendance aux drogues d'abus

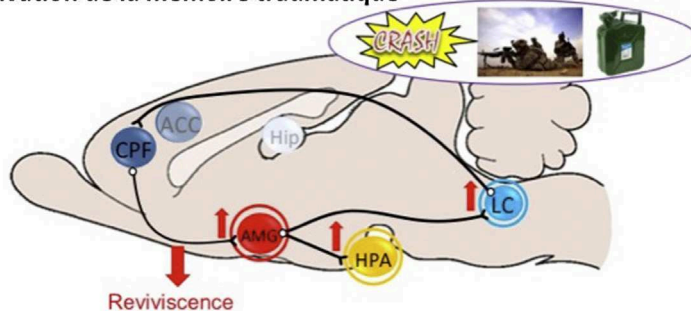
Cette rapide revue des caractéristiques communes entre addiction et TSPT met bien en évidence l'importance considérable des informations liées à la prise de drogue ou au traumatisme qui en réactivant répétitivement l'envie de drogue, ou l'émotion associée au traumatisme vont entretenir la pathologie et provoquer la rechute, même après de longues périodes d'abstinence ou de rémission. En partant de cette constatation, nous avons proposé de considérer ces deux pathologies comme des pathologies de la mémoire résultant d'une hypersensibilité aux indices de rappel de l'événement cible, la drogue ou le trauma [22]. Tout se passe comme si les patients réactivaient trop facilement leurs souvenirs pathologiques.



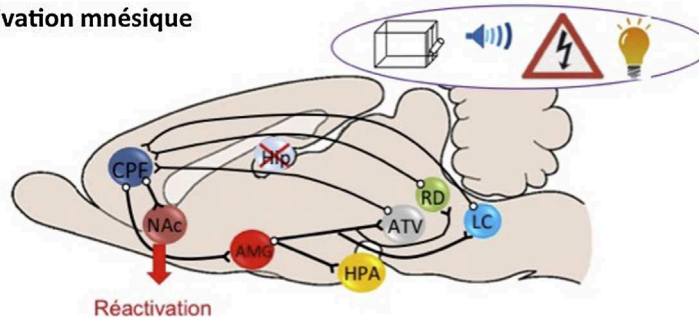
**A- Réactivation de la mémoire de dépendance**



**B- Réactivation de la mémoire traumatique**



**C- Réactivation mnésique**



**Figure 1.** Réactivation mnésique : implication d'un circuit limbo-cortico-striatal. A. La présentation d'indices associés à la prise de drogue qui conduit à un désir irrésistible de drogue (*craving*), et induit une activation de l'aire tegmentale ventrale (ATV), de l'amygdale (AMG), du cortex préfrontal (CPF), ainsi que du noyau accumbens (NAc). B. La présentation d'indices associés au traumatisme conduit à des reviviscences du traumatisme et s'accompagne d'une activation de l'amygdale (AMG) et du cortex préfrontal ainsi que d'une activation du système noradrénergique (via le locus coeruleus [LC]), ainsi que de l'axe hypothalamo-hypophysaire (HPA). C. La présentation d'indice de rappel facilite la performance de rétention et entraîne l'activation de l'amygdale (sans activation de l'hippocampe) et de l'axe hypothalamo-hypophysaire (HPA), ainsi que des systèmes de neuromédiateurs (ATV, LC et RD) qui convergent tous vers le cortex préfrontal et le noyau accumbens (NAc). AMG : amygdale ; CPF : cortex préfrontal ; Hip : hippocampe ; HPA : axe hypothalamo-hypophysaire ; NAc : noyau accumbens ; ATV : aire tegmentale ventrale ; LC : locus coeruleus ; RD : raphé dorsal ; ACC : cortex cingulaire antérieur.

**Circuits cérébraux activés par l'exposition à des indices de rappel**

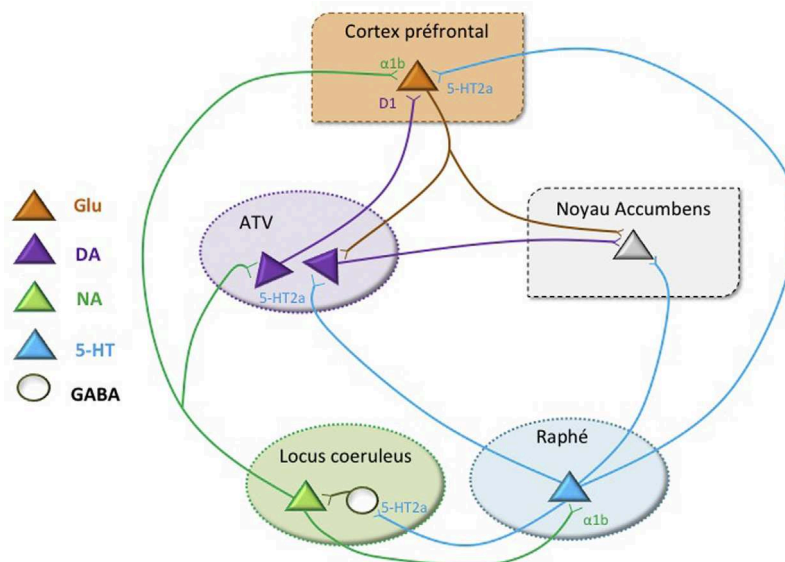
**Dépendance aux drogues d'abus**

On sait depuis longtemps que les sujets dépendants sont sensibles aux indices associés à la prise de produit ou aux conditions dans lesquelles ces événements prennent place (seringue, billet, petite cuillère, visage du dealer, locaux...). Les patients rapportent que l'exposition à ces indices induit un désir irrésistible de drogue pouvant provoquer une rechute. Plusieurs études d'imagerie cérébrale ont permis de déterminer le réseau structural activé par l'exposition de sujets dépendants à des indices provoquant le désir de drogue. Ce circuit comprend le striatum, l'amygdale, l'aire tegmentale ventrale, les cortex antérieur,

insulaire et préfrontal de même que l'hippocampe et le noyau accumbens (Fig. 1A [35]). Des données très similaires ont été obtenues chez l'animal en réponse à la présentation d'indices associés à la prise de drogue [35–38].

**TSPT**

D'autres études se sont intéressées aux circuits activés lors des reviviscences induites par l'exposition à des indices associés au traumatisme (odeur, son...) qui conduisent les patients à revivre leur traumatisme avec intensité. Ces études montrent une hyperactivation systématique de l'amygdale (Fig. 1B [39]), ainsi que l'activation d'un circuit impliquant le cortex préfrontal médian, les cortex cingulaire et insulaire, et l'hippocampe [40–43]. Quelques études mentionnent également l'implication du striatum dorsal en



**Figure 2.** Schéma des interactions entre les trois systèmes de neurotransmetteurs monoaminergiques (d'après Tassin, 2008). Les neurones noradrénergiques et sérotonergiques innervent des aires corticales ainsi que des noyaux mésencéphaliques complémentaires : le locus coeruleus contrôle les noyaux du raphé grâce aux récepteurs alpha1b-adrenergiques alors que les noyaux du raphé contrôlent le locus coeruleus par les récepteurs 5-HT2a. Le découplage résulterait de la perturbation de cette interaction réciproque. De plus, des cellules corticales pyramidales projettent sur des noyaux subcorticaux (nucleus accumbens) et mésencéphalique incluant l'aire tegmentale ventrale (VTA), ce qui expliquerait le couplage entre le système cortical noradrénergique et le système sous-cortical dopaminergique.

réponse à des indices liés au trauma [44,45]. Les modèles animaux de TSPT nous permettent également de mettre en évidence l'activation de ces mêmes structures [46], notamment du cortex préfrontal médian [47], de l'amygdale et de l'hippocampe [48], de l'aire tegmentale ventrale et du locus coeruleus [49].

### Réactivation mnésique

L'exposition à des indices de rappel permet la réactivation du souvenir associé. La réactivation est une étape essentielle des processus mnésiques, elle correspond au passage du souvenir de l'état passif, latent, à l'état actif, prêt à être restitué [50]. Le circuit activé par la présentation d'indices de rappel après une épreuve d'apprentissage chez l'animal comprend l'amygdale, le cortex préfrontal, le striatum et l'axe hypothalamo-hypophysaire, ainsi que la plupart des systèmes de neuromédiateurs (Fig. 1C [36,51–54]).

Bien qu'il n'y ait pas un recouvrement parfait entre les circuits activés dans les trois conditions préalables, on peut cependant constater qu'un circuit limbo-cortico-striatal joue un rôle déterminant lors de la réactivation des souvenirs qu'ils soient « normaux » ou hors normes, comme les souvenirs de drogue et de traumatisme.

### L'hypothèse de découplage des systèmes monoaminergiques

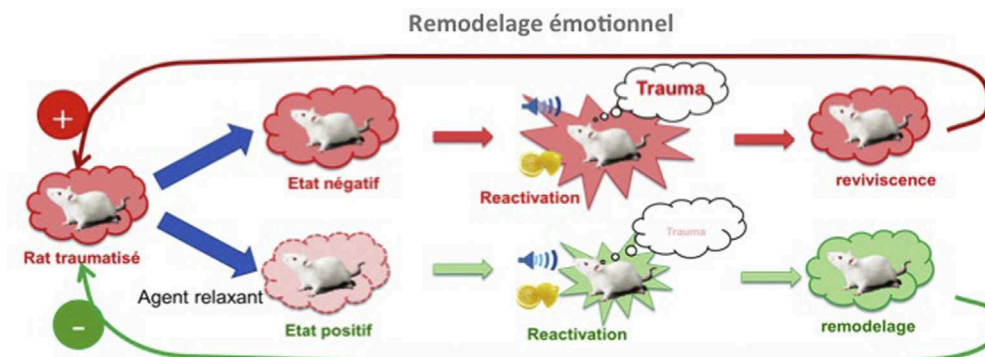
L'exposition à des événements saillants comme des stimuli inattendus, des stimuli sexuels, des stimuli conditionnels, de la drogue ou de la nourriture est connue pour induire chez l'animal des libérations accrues de monoamine, au niveau du cortex préfrontal [22,54]. Une hyper-réactivité aux indices de rappel devrait se traduire par des augmentations de libération de monoamine au niveau du cortex préfrontal. C'est

justement ce qui a été obtenu, après des injections répétées de drogues d'abus. L'équipe de Jean-Pol Tassin a montré que l'administration répétée de drogues d'abus (amphétamine, cocaïne, alcool, morphine) induit des libérations accrues de noradrénaline et de sérotonine au niveau du cortex préfrontal, lors de la stimulation ces systèmes [55]. Cette sensibilisation neurochimique ne se met pas en place si l'on bloque la libération de noradrénaline pendant les injections répétées de drogue [56]. Ces données sont compatibles avec notre hypothèse d'hyper-réactivité aux indices de rappel lors de dépendance aux drogues. Pour l'équipe de Tassin, un couplage des systèmes noradrénergiques et sérotoninergiques permet de réguler leurs activités : quand un des systèmes est activé, l'autre système intervient pour tempérer cette activation (Fig. 2). Lors de stimulations trop intenses induites par un psychostimulant, cette autorégulation ne peut se maintenir, conduisant à un découplage des systèmes monoaminergiques [55,57], se traduisant par des libérations accrues de monoamines lors de la stimulation des systèmes (sensibilisation neurochimique) responsables des augmentations de l'activité locomotrice des animaux (sensibilisation comportementale).

### Recherche d'un découplage monoaminergique chez l'animal soumis à un modèle de trouble de stress post-traumatique

#### Hypothèse de travail

Si l'hyper-réactivité aux indices de rappel, notée après l'exposition aux drogues d'abus, résulte d'un découplage des systèmes monoaminergiques, il est possible que



**Figure 3.** Schéma expliquant (A) l'hypothèse de découplage monoaminergique et (B) la possibilité de recoupler artificiellement ces systèmes pour un traitement thérapeutique. A. La perte d'autocontrôle entre les systèmes noradrénergique et le locus coeruleus et sérotonergique via le raphé induit une libération massive de ces neurotransmetteurs au sein du cortex préfrontal. B. L'action combiné d'antagoniste des récepteurs alpha1 adrénergique et 5-HT2A sérotonergiques permettrait de recoupler artificiellement ces systèmes réduisant les libérations excessives de neurotransmetteurs au sein du cortex préfrontal.

l'hyper-réactivité aux indices de rappel, notée après un traumatisme soit également dû à un découplage. Si tel est bien le cas, les sensibilisations comportementales et neurochimiques mises en évidence après la prise répétée de psychostimulants devraient également pouvoir être mises en évidence après un traumatisme. De plus, la stimulation des systèmes monoaminergiques par des indices de l'environnement devrait également induire une sensibilisation.

Notre démarche a consisté à choisir un modèle de trouble de stress post-traumatique chez le rat. Nous avons choisi le modèle du stress unique prolongé (*single prolonged stress* [SPS] ; 60) qui comprend trois stress successifs : un stress de contention, une nage forcée suivie d'une perte de connaissance au CO<sub>2</sub>. Ce modèle, largement utilisé dans la littérature, est capable d'induire de nombreux symptômes caractéristiques du TSPT chez l'homme [58,59].

## Résultats obtenus

Nous avons pu montrer une sensibilisation comportementale chez des rats traumatisés [60] ainsi que chez des rats injectés répétitivement avec de l'amphétamine [61]. Nous avons montré que la sensibilisation comportementale après traumatisme dépend du système noradrénergique [60], tout comme la sensibilisation après psychostimulants [56] et que l'exposition à des indices associés soit aux drogues [61,62], soit au traumatisme induisait une augmentation de l'activité locomotrice témoignant d'une sensibilisation comportementale. Ces premières données sont en accord avec notre hypothèse proposant que des mécanismes communs sont impliqués dans le TSPT et la dépendance aux drogues.

Dans un second temps, nous avons recherché si une sensibilisation neurochimique mise en évidence chez la souris après l'administration répétée de drogue d'abus [57] pouvait être retrouvée chez le rat après traumatisme. Pour ce faire, des animaux exposés ou non au SPS ont été équipés de sonde de microdialyse au niveau du cortex préfrontal. Les quantités de noradrénaline contenues dans les dialysats ont été déterminées en basal, ainsi qu'après une stimulation pharmacologique du système noradrénergique. Les données montrent que les animaux traumatisés présentent

des libérations de noradrénaline plus importantes que les rats de contrôle. Après séparation en résilients et vulnérables, on constate que seuls les rats vulnérables présentent ces augmentations de libération, traduisant une sensibilisation neurochimique, les rats de contrôle ne se distinguant pas des rats résilients [63].

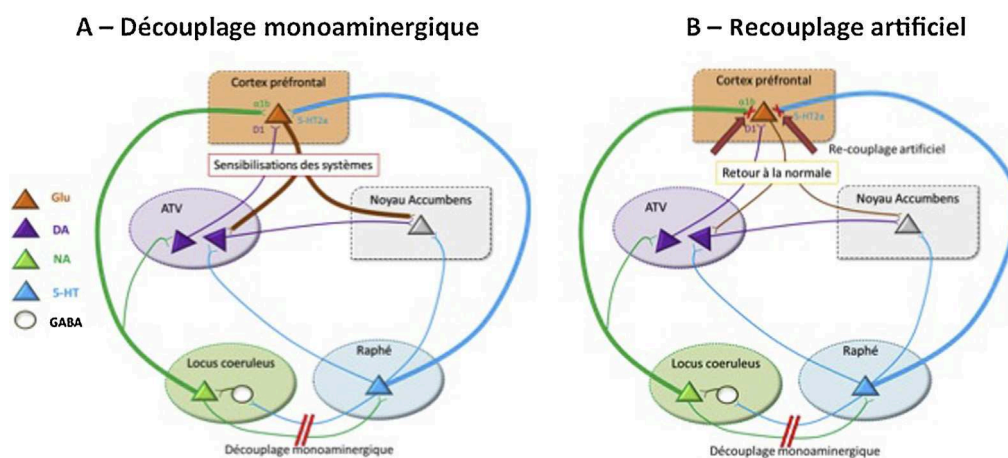
Notre travail expérimental nous a permis de montrer que les sensibilisations comportementales et neurochimiques obtenues après injections répétées de psychostimulants peuvent également être mises en évidence après un traumatisme. Ces données renforcent les similitudes entre dépendance aux drogues d'abus et le TSPT et soutiennent l'hypothèse d'une base physiologique commune pour ces deux pathologies. D'après nos données, l'exposition à des conditions extrêmes, traumatismes et drogues d'abus, peuvent induire un découplage des systèmes monoaminergiques qui serait responsable de l'hyper-réactivité des sujets aux indices environnementaux à l'origine des fréquentes rechutes qui caractérisent ces deux pathologies.

## Nouvelles approches thérapeutiques

Si comme nous le proposons TSPT et dépendance aux drogues d'abus ont des bases physiologiques communes, tout traitement efficace sur une pathologie devrait l'être également pour l'autre pathologie. Nous avons montré que TSPT et dépendance résulteraient d'un découplage des systèmes monoaminergiques qui serait responsable d'une hyper-réactivité aux indices de rappel. Ces données ouvrent deux nouvelles voies thérapeutiques directement issues de nos hypothèses : le recouplage des systèmes monoaminergiques et le remodelage émotionnel visant à modifier la mémoire pathologique.

### Le recouplage des systèmes monoaminergiques

En accord avec l'hypothèse de découplage, des traitements pharmacologiques capables de recoupler les systèmes monoaminergiques devraient être capables de traiter les deux pathologies. Nous avons vu que les mécanismes cellulaires et moléculaires du découplage mettent en jeu la



**Figure 4.** Schéma de l'hypothèse de remodelage émotionnel des souvenirs chez des animaux traumatisés. La réactivation du traumatisme induit des reviviscences incluant son versant émotionnel qui renforce la pathologie (ligne rouge). Lorsque la réactivation est réalisée alors que le sujet est placé dans un état positif, grâce à un agent pharmacologique, la composante émotionnelle associée au traumatisme est affaiblie. Grâce à la malléabilité des souvenirs réactivés, cette nouvelle valence est intégrée au souvenir du traumatisme induisant un remodelage émotionnel du souvenir traumatique et la diminution des symptômes de TSPT.

suractivation des récepteurs adrénergiques alpha1b et des récepteurs 5-HT2A (Fig. 3). Les pistes actuelles consistent donc à tester l'efficacité d'antagonistes de ces récepteurs afin de bloquer l'hyper-réactivité de ces systèmes lors de leur sollicitation. Une première étude vient de rapporter que l'emploi conjoint de ces antagonistes sur des animaux rendus dépendant à l'alcool leur permet d'abandonner très rapidement le biberon contenant de l'alcool [64]. Cette thérapie permettant de recoupler artificiellement les systèmes monoaminergiques pourrait être très rapidement appliquée à l'homme.

### Le remodelage émotionnel

Nous explorons actuellement une autre piste thérapeutique consistant à modifier la valence émotionnelle d'un souvenir. On sait depuis longtemps que les souvenirs nouvellement formés, et les souvenirs anciens réactivés sont dans un état comparable, caractérisé par leur malléabilité [65]. Cette caractéristique pourrait être utilisée comme base pour des nouvelles thérapies. Nous avons récemment montré que de nombreux traitements délivrés alors qu'un souvenir est actif sont capables de perturber la rétention ultérieure de ce souvenir en s'intégrant au souvenir initial [66]. S'il est possible d'intégrer de nouvelles informations comme un nouveau contexte à un souvenir, il doit également être possible d'intégrer une nouvelle valence émotionnelle.

Au cours de ces dernières années, nous avons réalisé plusieurs études visant à modifier la valence émotionnelle d'un souvenir pathologique (Fig. 4). Nous avons appelé cette procédure le remodelage émotionnel. Le principe est de réactiver un souvenir pathologique alors que le sujet est placé dans un état positif grâce à un traitement pharmacologique. Dans ces conditions, la composante émotionnelle du souvenir pathologique réactivé est réduite et grâce à la malléabilité, cette nouvelle valence émotionnelle va pouvoir s'intégrer au souvenir initial, le rendant ainsi moins pathologique.

Nous avons obtenu un remodelage émotionnel chez des rats soumis à notre modèle de TSPT. Dans cette étude,

des rats traumatisés ont reçu une injection d'amphétamine (1 mg/kg) avant la réactivation du souvenir du traumatisme. Les tests réalisés après le traitement indiquent une disparition des symptômes [67]. En collaboration avec une équipe de cliniciens dirigée par C.S. Peretti à l'hôpital St-Antoine, nous avons également réalisé un remodelage émotionnel sur un patient cocaïnomane [68]. Dans un premier temps, le patient a rapporté toutes les conditions conduisant à la réactivation du désir intense de cocaïne (*craving*). Dans un second temps, le patient a reçu, deux heures avant une séance de thérapie comportementale, du propranolol (80 mg *per os*), un antagoniste des récepteurs  $\beta$ -adrénergiques connu pour être un anxiolytique non sédatif. Au cours de la séance, les différentes conditions induisant la réactivation du désir de drogue sont présentées, alors que le sujet est dans un état émotionnel modifié. Grâce au propranolol, les réactivations du désir de drogue ont une intensité moindre. Cette réaction émotionnelle réduite va s'intégrer au souvenir du traumatisme réactivé et modifier la valence émotionnelle de la drogue. Après 10 séances hebdomadaires de réactivations multiples du désir de drogue sous propranolol, le *craving* a progressivement disparu. Le sujet est devenu abstinent à partir de la 5<sup>e</sup> séance et son abstinence (établie par tests urinaires) a perduré pendant la période de suivi qui a duré plus de 4 années, suggérant des effets durables du remodelage émotionnel [68].

### Conclusions

Nous proposons de considérer les troubles de stress post-traumatique et la dépendance aux drogues d'abus comme des pathologies de la mémoire. L'exposition à ces situations extrêmes induirait un découplage des systèmes monoaminergiques qui induirait responsable d'une hyper-réactivité aux indices environnementaux, induisant conduisant soit à des reviviscences du traumatisme, soit à des envies irrépressibles de drogue. Cette hypothèse de bases physiologiques communes repose maintenant sur un sérieux corpus de résultat. Nous avons montré que l'exposition à

un traumatisme, tout comme l'exposition répétée à des drogues d'abus, induit par une sensibilisation comportementale, ainsi qu'une sensibilisation neurochimique se traduisant par une libération accrue de noradrénaline au sein du cortex préfrontal. Nous avons également montré que les sensibilisations comportementales caractérisant ces deux pathologies dépendent du système noradrénergique puisqu'elles ne se mettent pas en place lorsque le système noradrénergique est bloqué lors l'exposition aux drogues ou au traumatisme [56,60]. Cette hypothèse nous a conduits à développer de nouvelles approches thérapeutiques qui sont en cours d'investigation, mais avec lesquelles nous avons d'ores et déjà obtenu des résultats prometteurs qui pourraient rapidement permettre le développement de nouveaux traitements en clinique humaine.

## Remerciements

Les auteurs remercient la Direction générale de l'armement (DGA) pour le financement de DT et CLD, ainsi que la Fondation Thérèse et René Planiol pour le financement qu'ils ont accordé à ce projet.

## Déclaration de liens d'intérêts

Les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts.

## Références

[1] Anthony JC, Warner LA, Kessler RC. Comparative epidemiology of dependence on tobacco, alcohol, controlled substances, and inhalants: Basic findings from the National Comorbidity Survey. *Exp Clin Psychopharmacol* 1994;2:244–68 [<http://www.umbrellasociety.ca/web/files/u1/Comp.epidemiology.addiction.pdf>] [Consulté le 29 juillet 2016 (25 pp.)].

[2] Kessler RC, Sonnega A, Bromet E, Hughes M, Nelson CB. Post-traumatic stress disorder in the National Comorbidity Survey. *Arch Gen Psychiatry* 1995;52:1048–60.

[3] Falconer E, Bryant R, Felmingham KL, Kemp AH, Gordon E, Peduto A, et al. The neural networks of inhibitory control in posttraumatic stress disorder. *J Psychiatry Neurosci* 2008;33:413–22.

[4] Kalivas PW, Volkow ND. The neural basis of addiction: a pathology of motivation and choice. *Am J Psychiatry* 2005;162:1403–13.

[5] Constans JI, Vasterling JJ, Deitch E, Han X, Tharp ALT, Davis TD, et al. Pre-Katrina mental illness, postdisaster negative cognitions, and PTSD symptoms in male veterans following Hurricane Katrina. *Psychol Trauma Theory Res Pract Policy* 2012;4:568–77.

[6] Volkow ND. Drug abuse and mental illness: progress in understanding comorbidity. *Am J Psychiatry* 2001;158:1181–3.

[7] Comings DE, Comings BG, Muhleman D, Dietz G, Shahbahrani B, Tast D, et al. The dopamine D2 receptor locus as a modifying gene in neuropsychiatric disorders. *JAMA* 1991;266:1793–800.

[8] Voisey J, Swagell CD, Hughes IP, Morris CP, van Daal A, Noble EP, et al. The DRD2 gene 957C>T polymorphism is associated with posttraumatic stress disorder in war veterans. *Depress Anxiety* 2009;26:28–33.

[9] Southwick SM, Bremner JD, Rasmusson A, Morgan CA, Arnsten A, Charney DS. Role of norepinephrine in the pathophysiology

and treatment of posttraumatic stress disorder. *Biol Psychiatry* 1999;46:1192–204.

[10] Weinschenker D, Schroeder JP. There and back again: a tale of norepinephrine and drug addiction. *Neuropsychopharmacology* 1997;32:1433–51.

[11] Yehuda R, Southwick S, Giller EL, Ma X, Mason JW. Urinary catecholamine excretion and severity of PTSD symptoms in Vietnam combat veterans. *J Nerv Ment Dis* 1992;180:321–5.

[12] Young EA, Breslau N. Cortisol and catecholamines in posttraumatic stress disorder: an epidemiologic community study. *Arch Gen Psychiatry* 2004;61:394–401.

[13] de Jong IEM, de Kloet ER. Glucocorticoids and vulnerability to psychostimulant drugs: toward substrate and mechanism. *Ann N Y Acad Sci* 2004;1018:192–8.

[14] Yehuda R, Bierer LM, Sarapas C, Makotkine I, Andrew R, Seckl JR. Cortisol metabolic predictors of response to psychotherapy for symptoms of PTSD in survivors of the World Trade Center attacks on September 11, 2001. *Psychoneuroendocrinology* 2009;34:1304–13.

[15] Goldstein RZ, Volkow ND. Dysfunction of the prefrontal cortex in addiction: neuroimaging findings and clinical implications. *Nat Rev Neurosci* 2011;12:652–69.

[16] Shin LM, Orr SP, Carson MA, Rauch SL, Macklin ML, Lasko NB, et al. Regional cerebral blood flow in the amygdala and medial prefrontal cortex during traumatic imagery in male and female Vietnam veterans with PTSD. *Arch Gen Psychiatry* 2004;61:168–76.

[17] Foa EB, Hembree EA, Cahill SP, Rauch SAM, Riggs DS, Feeny NC, et al. Randomized trial of prolonged exposure for posttraumatic stress disorder with and without cognitive restructuring: outcome at academic and community clinics. *J Consult Clin Psychol* 2005;73:953–64.

[18] McHugh RK, Hearon BA, Otto MW. Cognitive behavioral therapy for substance use disorders. *Psychiatr Clin North Am* 2010;33:511–25.

[19] Kampman KM, Volpicelli JR, Mulvaney F, Alterman AI, Cornish J, Gariti P, et al. Effectiveness of propranolol for cocaine dependence treatment may depend on cocaine withdrawal symptom severity. *Drug Alcohol Depend* 2001;63:69–78.

[20] O'Brien CP. A range of research-based pharmacotherapies for addiction. *Science* 1997;278:66–70.

[21] Tarrier N, Sommerfield C, Pilgrim H, Humphreys L. Cognitive therapy or imaginal exposure in the treatment of post-traumatic stress disorder. Twelve-month follow-up. *Br J Psychiatry* 1999;175:571–5.

[22] Gisquet-Verrier P. Hypersensitivity to cue-elicited memory reactivation as a possible source for psychiatric pathologies such as relapse to drug addiction and post traumatic. In: Grannon S, editor. *Endophenotypes Psychiatr Neurodegener Disord Rodent Model*. 2009. p. 41–82.

[23] Stewart SH, Pihl RO, Conrod PJ, Dongier M. Functional associations among trauma, PTSD, and substance-related disorders. *Addict Behav* 1998;23:797–812.

[24] Baker DG, Heppner P, Afari N, Nunnink S, Kilmer M, Simons A, et al. Trauma exposure, branch of service, and physical injury in relation to mental health among U.S. veterans returning from Iraq and Afghanistan. *Mil Med* 2009;174:773–8.

[25] Jacobsen LK, Southwick SM, Kosten TR. Substance use disorders in patients with posttraumatic stress disorder: a review of the literature. *Am J Psychiatry* 2001;158:1184–90.

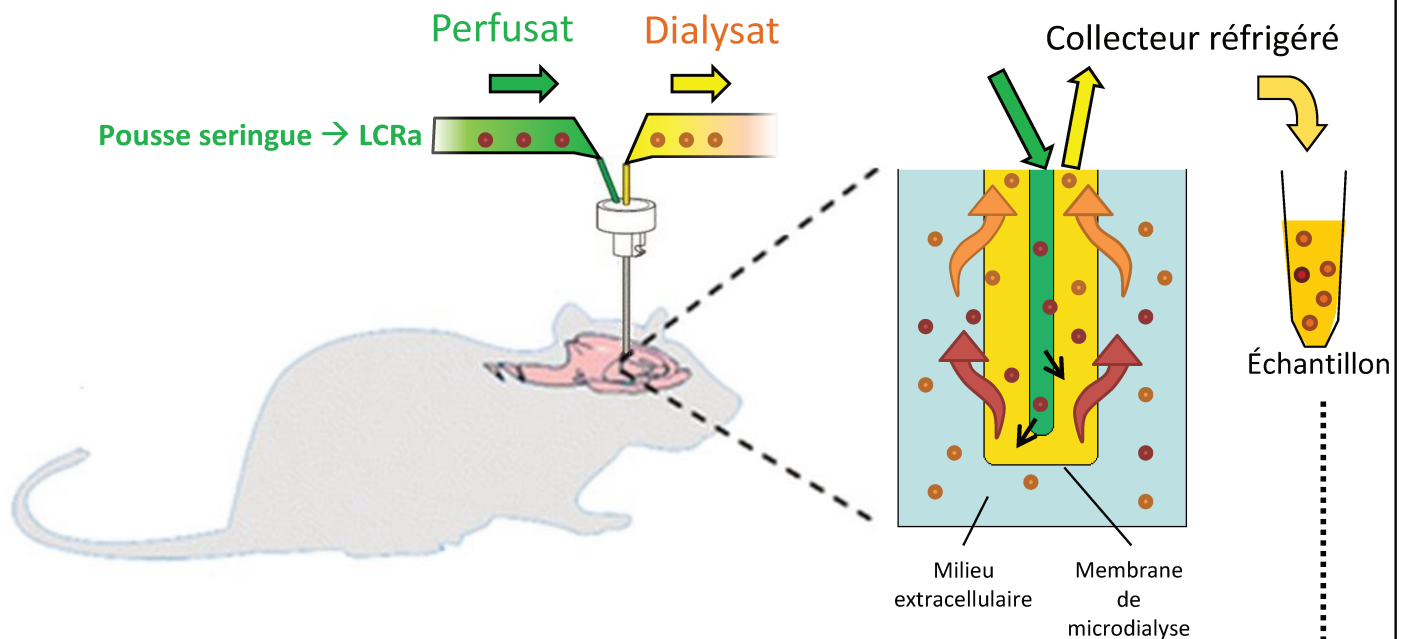
[26] Stewart SH, Conrod PJ, Barton Samoluk S, Pihl RO, Dongier M. Posttraumatic stress disorder symptoms and situation-specific drinking in women substance abusers. *Alcohol Treat* 2000;18:31–47 <http://alcoholresearchlab.psychology.dal.ca/documents/publications/2000/Stewart%20et%20al%202000.pdf>.

- [27] Brady KT, Dansky BS, Sonne SC, Saladin ME. Posttraumatic stress disorder and cocaine dependence. Order of onset. *Am J Addict* 1998;7:128–35.
- [28] Chilcoat HD, Breslau N. Investigations of causal pathways between PTSD and drug use disorders. *Addict Behav* 1998;23:827–40.
- [29] Bonin MF, Norton GR, Asmundson GJ, Dicurzio S, Pidlubney S. Drinking away the hurt: the nature and prevalence of PTSD in substance abuse patients attending a community-based treatment program. *J Behav Ther Exp Psychiatry* 2000;31:55–66.
- [30] Sharkansky EJ, Brief DJ, Peirce JM, Meehan JC, Mannix LM. Substance abuse patients with posttraumatic stress disorder (PTSD): identifying specific triggers of substance use and their associations with PTSD symptoms. *Psychol Addict Behav* 1999;13:89–97.
- [31] Cottler LB, Nishith P, Compton WM. Gender differences in risk factors for trauma exposure and post-traumatic stress disorder among inner-city drug abusers in and out of treatment. *Compr Psychiatry* 2001;42:111–7.
- [32] Fassino S, Daga GA, Delsedime N, Rogna L, Boggio S. Quality of life and personality disorders in heroin abusers. *Drug Alcohol Depend* 2004;76:73–80.
- [33] Coffey SF, Read JP, Norberg MM. Posttraumatic stress disorder and substance use disorder: neuroimaging, neuroendocrine, and psychophysiological findings. In: Stewart SH, Conrod PJ, editors. *Series in anxiety and related disorders*. Boston, MA: Springer US; 2008., <http://dx.doi.org/10.1007/978-0-387-74290-8>.
- [34] Hien D, Cohen L, Campbell A. Is traumatic stress a vulnerability factor for women with substance use disorders? *Clin Psychol Rev* 2005;25:813–23.
- [35] Johnson TR, Smerkers B, Moulder JK, Stellar JR, Febo M. Neural processing of a cocaine-associated odor cue revealed by functional MRI in awake rats. *Neurosci Lett* 2013;534:160–5.
- [36] Jasinska AJ, Stein EA, Kaiser J, Naumer MJ, Yalachkov Y. Factors modulating neural reactivity to drug cues in addiction: a survey of human neuroimaging studies. *Neurosci Biobehav Rev* 2014;38:1–16.
- [37] Liu J, Calhoun VD, Chen J, Claus ED, Hutchison KE. Effect of homozygous deletions at 22q13.1 on alcohol dependence severity and cue-elicited BOLD response in the precuneus. *Addict Biol* 2013;18:548–58.
- [38] Lowen SB, Rohan ML, Gillis TE, Thompson BS, Wellons CBW, Andersen SL. Cocaine-conditioned odor cues without chronic exposure: implications for the development of addiction vulnerability. *NeuroImage Clin* 2015;8:652–9.
- [39] Goodman J, Leong KC, Packard MG. Emotional modulation of multiple memory systems: implications for the neurobiology of post-traumatic stress disorder. *Rev Neurosci* 2012;23:627–43.
- [40] Rauch SL, Shin LM, Phelps EA. Neurocircuitry models of posttraumatic stress disorder and extinction: human neuroimaging research—past, present, and future. *Biol Psychiatry* 2006;60:376–82.
- [41] Carrión VG, Haas BW, Garrett A, Song S, Reiss AL. Reduced hippocampal activity in youth with posttraumatic stress symptoms: an fMRI study. *J Pediatr Psychol* 2010;35:559–69.
- [42] Bremner JD. Neuroimaging in posttraumatic stress disorder and other stress-related disorders. *Neuroimaging Clin N Am* 2007;17:523–38 [ix].
- [43] Jovanovic T, Ely T, Fani N, Glover EM, Gutman D, Tone EB, et al. Reduced neural activation during an inhibition task is associated with impaired fear inhibition in a traumatized civilian sample. *Cortex* 2012;49:1884–91.
- [44] Osuch EA, Willis MW, Bluhm R, Ursano RJ, Drevets WC. Neurophysiological responses to traumatic reminders in the acute aftermath of serious motor vehicle collisions using [15O]-H<sub>2</sub>O positron emission tomography. *Biol Psychiatry* 2008;64:327–35.
- [45] Mickleborough MJS, Daniels JK, Coupland NJ, Kao R, Williamson PC, Lanius UF, et al. Effects of trauma-related cues on pain processing in posttraumatic stress disorder: an fMRI investigation. *J Psychiatry Neurosci* 2001;36:6–14.
- [46] Whitaker AM, Gilpin NW, Edwards S. Animal models of post-traumatic stress disorder and recent neurobiological insights. *Behav Pharmacol* 2014;25:398–409.
- [47] Tulogdi A, Sörös P, Tóth M, Nagy R, Biró L, Aliczki M, et al. Temporal changes in c-Fos activation patterns induced by conditioned fear. *Brain Res Bull* 2012;88:359–70.
- [48] Ritov G, Ardi Z, Richter-Levin G. Differential activation of amygdala, dorsal and ventral hippocampus following an exposure to a reminder of underwater trauma. *Front Behav Neurosci* 2014;8:18.
- [49] Olson VG, Rockett HR, Reh RK, Redila V, Tran PM, Venkov H, et al. The role of norepinephrine in differential response to stress in an animal model of posttraumatic stress disorder. *Biol Psychiatry* 2011;70:441–8.
- [50] Gisquet-Verrier P, Riccio DC. Memory reactivation effects independent of reconsolidation. *Learn Mem* 2012;19:401–9.
- [51] Boujabit M, Bontempi B, Destrade C, Gisquet-Verrier P. Exposure to a retrieval cue in rats induces changes in regional brain glucose metabolism in the amygdala and other related brain structures. *Neurobiol Learn Mem* 2003;79:57–71.
- [52] Botreau F, El Massioui N, Chéruef F, Gisquet-Verrier P. Effects of medial prefrontal cortex and dorsal striatum lesions on retrieval processes in rats. *Neuroscience* 2004;129:539–53.
- [53] Gisquet-Verrier P, Botreau F, Venero C, Sandi C. Exposure to retrieval cues improves retention performance and induces changes in ACTH and corticosterone release. *Psychoneuroendocrinology* 2004;29:529–56.
- [54] Feenstra MG. Dopamine and noradrenaline release in the prefrontal cortex in relation to unconditioned and conditioned stress and reward. *Prog Brain Res* 2000;126:133–63.
- [55] Lanteri C, Salomon L, Torrens Y, Glowinski J, Tassin JP. Drugs of abuse specifically sensitize noradrenergic and serotonergic neurons via a non-dopaminergic mechanism. *Neuropsychopharmacology* 2008;33:1724–34.
- [56] Doucet EL, Bobadilla AC, Houades V, Lanteri C, Godeheu G, Lanfumey L, et al. Sustained impairment of  $\alpha$ 2A-adrenergic autoreceptor signaling mediates neurochemical and behavioral sensitization to amphetamine. *Biol Psychiatry* 2013;74:90–8.
- [57] Tassin JP. Uncoupling between noradrenergic and serotonergic neurons as a molecular basis of stable changes in behavior induced by repeated drugs of abuse. *Biochem Pharmacol* 2008;75:85–97.
- [58] Liberzon I, Krstov M, Young EA. Stress-restress: effects on ACTH and fast feedback. *Psychoneuroendocrinology* 1997;22:443–53.
- [59] Le Dorze C, Gisquet-Verrier P. Sensitivity to trauma-associated cues is restricted to vulnerable traumatized rats and reinstated after extinction by yohimbine. *Behav Brain Res* 2016;313:120–34.
- [60] Toledano D, Tassin JP, Gisquet-Verrier P. Traumatic stress in rats induces noradrenergic-dependent long-term behavioral sensitization: role of individual differences and similarities with dependence on drugs of abuse. *Psychopharmacology (Berl)* 2013;230:465–76.
- [61] Toledano D, Gisquet-Verrier P. Repeated amphetamine injections alter behavior and induce a delayed behavioral sensitization modulated by reactivity to novelty: similarities and differences with trauma consequences. *Eur Neuropsychopharmacol* 2016;26(3):456–66.
- [62] Polston JE, Rubbinaccio HY, Morra JT, Sell EM, Glick SD. Music and methamphetamine: conditioned cue-induced increases in locomotor activity and dopamine release in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 2011;98:54–61.

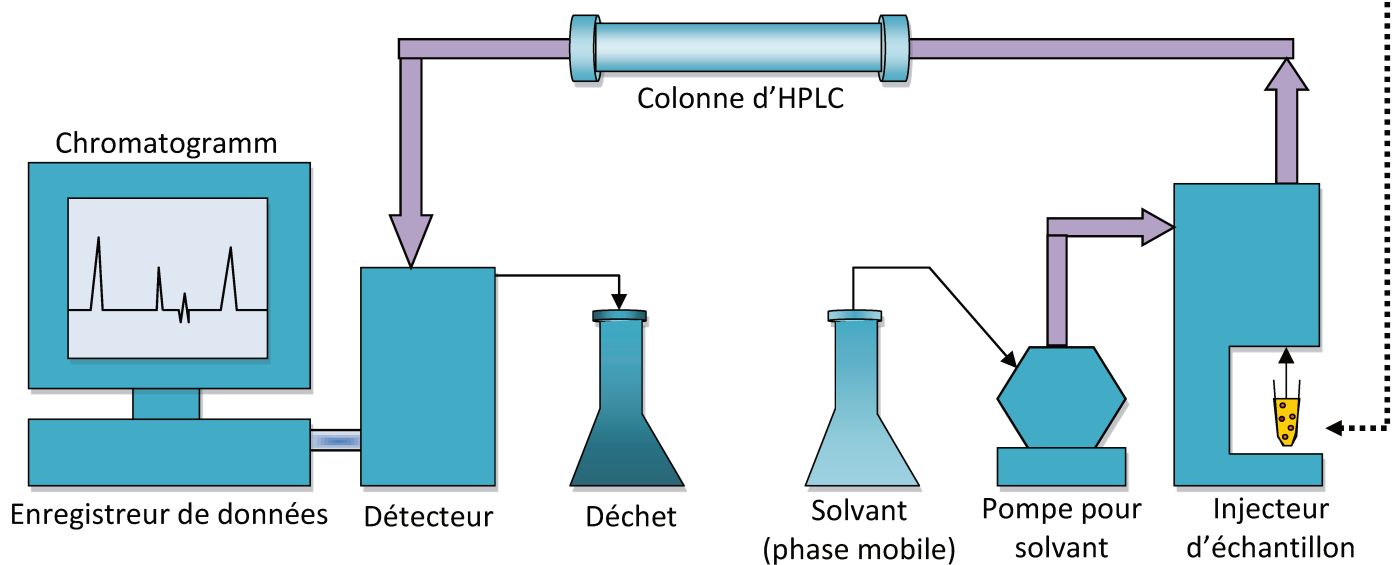
- [63] Le Dorze C, Tassin JP, Gisquet-verrier P. Vulnerable traumatized rats demonstrate increases in medial prefrontal noradrenergic release: a support to the hypothesis of common physiological bases for PTSD and dependence to drugs of abuse. Copenhagen: FENS; 2016 <http://www.fens.org>.
- [64] Trovero F, David S, Bernard P, Puech A, Bizot JC, Tassin JP. The combination of marketed antagonists of  $\alpha$ 1b-adrenergic and 5-HT<sub>2A</sub> receptors inhibits behavioral sensitization and preference to alcohol in mice: a promising approach for the treatment of alcohol dependence. *PLoS One* 2016;11: e0151242.
- [65] Lewis DJ. Psychobiology of active and inactive memory. *Psychol Bull* 1979;86:1054–83.
- [66] Gisquet-Verrier P, Lynch JF, Cutolo P, Toledano D, Ulmen A, Jasnow AM, et al. Integration of new information with active memory accounts for retrograde amnesia: a challenge to the consolidation/reconsolidation hypothesis? *J Neurosci* 2015;35:11623–33.
- [67] Toledano D, Gisquet-Verrier P. Only susceptible rats exposed to a model of PTSD exhibit reactivity to trauma-related cues and other symptoms: an effect abolished by a single amphetamine injection. *Behav Brain Res* 2014;272:165–74.
- [68] Chopin MV, Peretti CS, Gisquet-Verrier P, Hoffmann C, Belaïd A, Chouinard G. Cocaine use disorder treated with specific cognitive behavioral therapy and adjunctive propranolol. *Psychother Psychosom* 2016;85:61–3.

## Annexe 2 : Technique de microdialyse

### 1) Obtention échantillon



### 2) Analyse échantillon



**Figure 22 : schéma de la technique de microdialyse**

**1) Obtention de l'échantillon :** une sonde de microdialyse est insérée dans la structure cible. La perfusion de liquide céphalo-rachidien artificiel (LCRa) à travers cette sonde va permettre de récupérer les échantillons des dialysats. **2) Analyse échantillon :** utilisation d'une chaîne de chromatographie liquide à haute performance (« High Performance Liquid Chromatography » ou HPLC). L'échantillon est injecté à travers la colonne de chromatographie. On obtient un chromatogramme nous informant des quantités de molécules présentes, en fonction de leur temps de sortie.



## Table des illustrations

<b>Figure 1</b> : schéma de la consolidation et reconsolidation -----	21
<b>Figure 2</b> : Schéma hypothétique de la réactivation mnésique induite par la présentation d'un indice de rappel -----	27
<b>Figure 3</b> : Modèle dynamico-cognitif (Horowitz 1986) -----	36
<b>Figure 4</b> : Profil évolutif pour le TSPT, figure adaptée de l'institut de victimologie et de la défense gouvernementale -----	37
<b>Figure 5</b> : Modèle d'exposition aux chocs électriques -----	48
<b>Figure 6</b> : Modèle de chocs électriques avec réexpositions aux indices -----	49
<b>Figure 7</b> : Modèle d'exposition aux prédateurs et odeurs de prédateurs -----	50
<b>Figure 8</b> : Modèle de défaite sociale -----	51
<b>Figure 9</b> : Modèle du Single Prolonged Stress -----	51
<b>Figure 10</b> : Schéma du circuit du stress : Initiation d'une réponse de stress et rôle de l'amygdale dans les réponses associées -----	54
<b>Figure 11</b> : Altérations cérébrales fonctionnelles et anatomiques liées à l'état de stress post-traumatique (TSPT) chez l'adulte. d'après (Dégeilh et al., 2013) -----	57
<b>Figure 12</b> : Réponses de l'axe corticotrope à un stress chez un sujet sain et un patient TSPT, adaptée de (Yehuda et al., 2015) -----	62
<b>Figure 13</b> : Réactivation mnésique : implication d'un circuit limbo-cortico-striatal -----	85
<b>Figure 14</b> : Régulations entre les systèmes noradrénergique et sérotoninergique -----	90
<b>Figure 15</b> : Schéma des interactions entre les trois systèmes de neurotrans- -metteurs monoaminergiques (d'après Tassin, 2008). -----	90
<b>Figure 16</b> : schéma expliquant l'hypothèse de découplage dans le modèle d'exposition répétée aux drogues -----	91
<b>Figure 17</b> : Résultats expérience préliminaire sur remodelage avec oxytocine -----	209
<b>Figure 18</b> : hypothèse des liens entre sensibilisation noradrénergique et Comportementale -----	253
<b>Figure 19</b> : principe du remodelage émotionnel pour le TSPT -----	254
<b>Figure 20</b> : hypothèse du découplage et cibles du recouplage monoaminergique -----	258
<b>Figure 21</b> : Bilan des effets d'un traumatisme et des traitements possibles -----	261
<b>Figure 22</b> : schéma de la technique de microdialyse -----	275

## Table des tableaux

<b>Tableau 1</b> : Critères diagnostiques du trouble de stress post traumatique selon le DSM-5 (2013) -----	35
<b>Tableau 2</b> : Prévalence du TSPT en fonction du type d'événement traumatisant, tiré des données de Breslau et al. 1998 -----	38
<b>Tableau 3</b> : Troubles mnésiques associés à l'hippocampe et l'amygdale dans le TSPT ---	47
<b>Tableau 4</b> : Résumé des critères de validité selon les différents modèles animaux d'ESPT -----	52
<b>Tableau 5</b> : anomalies neurobiologiques présentes dans le TSPT et leurs conséquences possibles (repris de Decam 2012) -----	57
<b>Tableau 6</b> : Anomalies neurobiologiques présentes dans le TSPT et leurs conséquences possibles (repris de Decam 2012) -----	63
<b>Tableau 7</b> : description des effets des différentes catégories de drogue sur le système nerveux central -----	74
<b>Tableau 8</b> : critères de dépendance à une substance selon le DSM-V -----	75
<b>Tableau 9</b> : sélection des critères pour étudier la variabilité individuelle selon (Deroche et al., 2013) -----	78
<b>Tableau 10</b> : résumé des résultats de l'expérience préliminaire de remodelage à l'ocytocine -----	210

## Bibliographie

- Adamec R, Holmes A, Blundell J. 2008. Vulnerability to lasting anxiogenic effects of brief exposure to predator stimuli: sex, serotonin and other factors-relevance to PTSD. *Neurosci Biobehav Rev* 32:1287–1292.
- Aghajanian GK. 1980. Mescaline and LSD facilitate the activation of locus coeruleus neurons by peripheral stimuli. *Brain Res* 186:492–8.
- Ahmad A, Larsson B, Sundelin-Wahlsten V. 2007. EMDR treatment for children with PTSD: results of a randomized controlled trial. *Nord J Psychiatry* 61:349–354.
- Ahmed SH, Koob GF. 2005. Transition to drug addiction: a negative reinforcement model based on an allostatic decrease in reward function. *Psychopharmacology (Berl)* 180:473–490.
- Akimova E, Lanzenberger R, Kasper S. 2009. The serotonin-1A receptor in anxiety disorders. *Biol Psychiatry* 66:627–35.
- Alberini CM. 2011. The role of reconsolidation and the dynamic process of long-term memory formation and storage. *Front Behav Neurosci* 5:12.
- Alonso J, Angermeyer M, Bernert S. 2004. Prevalence of mental disorders in Europe: results from the European Study of the Epidemiology of Mental Disorders (ESEMeD) project. *Acta Psychiatr*.
- Alttoa A, Eller M, Herm L, Rincken A, Harro J. 2007. Amphetamine-induced locomotion, behavioral sensitization to amphetamine, and striatal D2 receptor function in rats with high or low spontaneous exploratory activity: differences in the role of locus coeruleus. *Brain Res* 1131:138–148.
- American Psychiatric Association. 2013. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders: DSM-5*. American Psychiatric Association.
- Amstadter AB, Koenen KC, Ruggiero KJ, Acierno R, Galea S, Kilpatrick DG, Gelernter J. 2009. Variant in RGS2 moderates posttraumatic stress symptoms following potentially traumatic event exposure. *J Anxiety Disord* 23:369–373.
- Andreasen NC. 2010. Posttraumatic stress disorder: a history and a critique. *Ann N Y Acad Sci* 1208:67–71.
- Anisman H, Matheson K. 2005. Stress, depression, and anhedonia: caveats concerning animal models. *Neurosci Biobehav Rev* 29:525–546.
- Anthony JC, Warner LA, Kessler RC. 1994. Comparative epidemiology of dependence on tobacco, alcohol, controlled substances, and inhalants: Basic findings from the National Comorbidity Survey. *Exp Clin Psychopharmacol* 2:244–268.
- Ardi Z, Albrecht A, Richter-Levin A, Saha R, Richter-Levin G. 2016. Behavioral profiling as a translational approach in an animal model of posttraumatic stress disorder. *Neurobiol Dis* 88:139–47.
- Ardi Z, Ritov G, Lucas M, Richter-Levin G. 2014. The effects of a reminder of underwater trauma on behaviour and memory-related mechanisms in the rat dentate gyrus. *Int J Neuropsychopharmacol* 17:571–80.
- Armstrong K, O’Callahan W. 1991. Debriefing Red Cross disaster personnel: the multiple stressor debriefing model. *J Trauma*.
- Arnsten AFT, Raskind MA, Taylor FB, Connor DF. 2015. The Effects of Stress Exposure on Prefrontal Cortex: Translating Basic Research into Successful Treatments for Post-Traumatic Stress Disorder. *Neurobiol Stress* 1:89–99.
- Artinian J, McGauran A-MT, De Jaeger X, Mouldous L, Frances B, Roullet P. 2008. Protein degradation, as with protein synthesis, is required during not only long-term spatial

- memory consolidation but also reconsolidation. *Eur J Neurosci* 27:3009–3019.
- Arvers P. 2003. Données épidémiologiques sur l'abus, la dépendance et les comorbidités. In: *Alcool Dommage sociaux Abus et dépendance*. INSERM.
- Atwoli L, Stein D, Koenen K. 2015. Epidemiology of posttraumatic stress disorder: prevalence, correlates and consequences. *Curr Opin*.
- Auclair A, Blanc G, Glowinski J, Tassin J-P. 2004a. Role of serotonin 2A receptors in the D-amphetamine-induced release of dopamine: comparison with previous data on alpha1b-adrenergic receptors. *J Neurochem* 91:318–326.
- Auclair A, Drouin C, Cotecchia S, Glowinski J, Tassin J-P. 2004b. 5-HT2A and alpha1b-adrenergic receptors entirely mediate dopamine release, locomotor response and behavioural sensitization to opiates and psychostimulants. *Eur J Neurosci* 20:3073–3084.
- Azmitia EC, Segal M. 1978. An autoradiographic analysis of the differential ascending projections of the dorsal and median raphe nuclei in the rat. *J Comp Neurol* 179:641–67.
- Baker DG, Heppner P, Afari N, Nunnink S, Kilmer M, Simmons A, Harder L, Bosse B. 2009. Trauma exposure, branch of service, and physical injury in relation to mental health among U.S. veterans returning from Iraq and Afghanistan. *Mil Med* 174:773–8.
- Baker LJ, Kesner RP, Michal RE. 1981. Differential effects of a reminder cue on amnesia induced by stimulation of amygdala and hippocampus. *J Comp Physiol Psychol* 95:312–321.
- Bandelow B, Zohar J, Hollander E, Kasper S, Möller H-J, WFSBP Task Force on Treatment Guidelines for Anxiety O-C and P-TSD. 2008. World Federation of Societies of Biological Psychiatry (WFSBP) guidelines for the pharmacological treatment of anxiety, obsessive-compulsive and post-traumatic stress disorders - first revision. *World J Biol Psychiatry* 9:248–312.
- Baraban JM, Aghajanian GK. 1980. Suppression of firing activity of 5-HT neurons in the dorsal raphe by alpha-adrenoceptor antagonists. *Neuropharmacology* 19:355–363.
- Bardo MT, Bevins RA. 2000. Conditioned place preference: what does it add to our preclinical understanding of drug reward? *Psychopharmacology (Berl)* 153:31–43.
- Bartoletti M, Gaiardi M, Gubellini G, Bacchi A, Babbini M. 1983. Long-term sensitization to the excitatory effects of morphine. A motility study in post-dependent rats. *Neuropharmacology* 22:1193–6.
- Beck CH, Fibiger HC. 1995. Conditioned fear-induced changes in behavior and in the expression of the immediate early gene c-fos: with and without diazepam pretreatment. *J Neurosci* 15:709–720.
- Belin D, Berson N, Balado E, Piazza PV, Deroche-Gamonet V. 2011. High-novelty-preference rats are predisposed to compulsive cocaine self-administration. *Neuropsychopharmacology* 36:569–79.
- Bennett MR, Hatton SN, Lagopoulos J. 2016. Stress, trauma and PTSD: translational insights into the core synaptic circuitry and its modulation. *Brain Struct Funct* 221:2401–26.
- Bentfour Y, Rakibi Y, Bennis M, Ba-M'hamed S, Garcia R. 2016. Paroxetine treatment, following behavioral suppression of PTSD-like symptoms in mice, prevents relapse by activating the infralimbic cortex. *Eur Neuropsychopharmacol* 26:195–207.
- De Berardis D, Serroni N, Carano A, Scali M, Valchera A, Campanella D, D'Albenzio A, Di Giuseppe B, Moschetta FS, Salerno RM, Ferro FM. 2008. The role of duloxetine in the treatment of anxiety disorders. *Neuropsychiatr Dis Treat* 4:929–35.
- Bershad AK, Miller MA, Baggott MJ, de Wit H. 2016. The effects of MDMA on socio-emotional processing: Does MDMA differ from the other stimulants? *J*

Psychopharmacol 1.

- Besnard A, Caboche J, Laroche S. 2012. Reconsolidation of memory: a decade of debate. *Prog Neurobiol* 99:61–80.
- Binder EB, Bradley RG, Liu W, Epstein MP, Deveau TC, Mercer KB, Tang Y, Gillespie CF, Heim CM, Nemeroff CB, Schwartz AC, Cubells JF, Ressler KJ. 2008. Association of FKBP5 polymorphisms and childhood abuse with risk of posttraumatic stress disorder symptoms in adults. *JAMA* 299:1291–1305.
- Blanchard EB, Kolb LC, Prins A, Gates S, McCoy GC. 1991. Changes in plasma norepinephrine to combat-related stimuli among Vietnam veterans with posttraumatic stress disorder. *J Nerv Ment Dis* 179:371–373.
- Bobadilla A-C. 2014. Mécanismes du maintien de l'hyper-réactivité noradrénergique et sérotoninergique induite par l'exposition répétée à l'amphétamine.
- Bolton EE, Jordan AH, Lubin RE, Litz BT. 2015. Prevention of PTSD.
- Bonanno G a. 2004. Loss, trauma, and human resilience: have we underestimated the human capacity to thrive after extremely aversive events? *Am Psychol* 59:20–28.
- Bonate PL, Swann A, Silverman PB. 1997. Context-dependent cross-sensitization between cocaine and amphetamine. *Life Sci* 60:PL1-7.
- Bonin MF, Norton GR, Asmundson GJ, Dicurzio S, Pidlubney S. 2000. Drinking away the hurt: the nature and prevalence of PTSD in substance abuse patients attending a community-based treatment program. *J Behav Ther Exp Psychiatry* 31:55–66.
- Borghans B, Homberg JR. 2015. Animal models for posttraumatic stress disorder: An overview of what is used in research. *World J psychiatry* 5:387–96.
- Boscarino JA. 1996. Posttraumatic stress disorder, exposure to combat, and lower plasma cortisol among Vietnam veterans: findings and clinical implications. *J Consult Clin Psychol* 64:191–201.
- Botreau F, El Massioui N, Chéruef F, Gisquet-Verrier P. 2004. Effects of medial prefrontal cortex and dorsal striatum lesions on retrieval processes in rats. *Neuroscience* 129:539–553.
- Boujabit M, Bontempi B, Destrade C, Gisquet-Verrier P. 2003. Exposure to a retrieval cue in rats induces changes in regional brain glucose metabolism in the amygdala and other related brain structures. *Neurobiol Learn Mem* 79:57–71.
- Brady KT, Dansky BS, Sonne SC, Saladin ME. 1998. Posttraumatic stress disorder and cocaine dependence. Order of onset. *Am J Addict* 7:128–35.
- Braun P, Greenberg D, Dasberg H, Lerer B. 1990. Core symptoms of posttraumatic stress disorder unimproved by alprazolam treatment. *J Clin Psychiatry* 51:236–8.
- Bremner JD. 2007. Neuroimaging in posttraumatic stress disorder and other stress-related disorders. *Neuroimaging Clin N Am* 17:523–38, ix.
- Bremner JD, Innis RB, Ng CK, Staib LH, Salomon RM, Bronen RA, Duncan J, Southwick SM, Krystal JH, Rich D, Zupal G, Dey H, Soufer R, Charney DS. 1997a. Positron emission tomography measurement of cerebral metabolic correlates of yohimbine administration in combat-related posttraumatic stress disorder. *Arch Gen Psychiatry* 54:246–254.
- Bremner JD, Innis RB, Southwick SM, Staib L, Zoghbi S, Charney DS. 2000. Decreased benzodiazepine receptor binding in prefrontal cortex in combat-related posttraumatic stress disorder. *Am J Psychiatry* 157:1120–1126.
- Bremner JD, Krystal JH, Southwick SM, Charney DS. 1995. Functional neuroanatomical correlates of the effects of stress on memory. *J Trauma Stress* 8:527–553.
- Bremner JD, Licinio J, Darnell A, Krystal JH, Owens MJ, Southwick SM, Nemeroff CB, Charney DS. 1997b. Elevated CSF corticotropin-releasing factor concentrations in posttraumatic

- stress disorder. *Am J Psychiatry* 154:624–629.
- Bremner JD, Staib LH, Kaloupek D, Southwick SM, Soufer R, Charney DS. 1999. Neural correlates of exposure to traumatic pictures and sound in Vietnam combat veterans with and without posttraumatic stress disorder: a positron emission tomography study. *Biol Psychiatry* 45:806–816.
- Brennan PA, Schellinck HM, de la Riva C, Kendrick KM, Keverne EB. 1998. Changes in neurotransmitter release in the main olfactory bulb following an olfactory conditioning procedure in mice. *Neuroscience* 87:583–590.
- Breslau N. 2002. Epidemiologic studies of trauma, posttraumatic stress disorder, and other psychiatric disorders. *Can J Psychiatry* 47:923–929.
- Brewin CR. 2011. The Nature and Significance of Memory Disturbance in Posttraumatic Stress Disorder. *Annu Rev Clin Psychol* 7:203–227.
- Brewin CR. 2014. Episodic memory, perceptual memory, and their interaction: foundations for a theory of posttraumatic stress disorder. *Psychol Bull* 140:69–97.
- Brewin CR, Holmes EA. 2003. Psychological theories of posttraumatic stress disorder. *Clin Psychol Rev* 23:339–76.
- Brière M. 2011. Mise en place d'un protocole de prise en charge du sujet psychotraumatisé au sein du service d'accueil des urgences du centre hospitalier et universitaire d'Angers : Peut-on prévenir les symptômes post-traumatiques ?
- Briggs JF, Fitz KI, Riccio DC. 2007. Transfer of memory retrieval cues in rats. *Psychon Bull Rev* 14:495–9.
- Briggs JF, Riccio DC. 2008. Transfer of Old "Reactivated" Memory Retrieval Cues in Rats. *Learn Motiv* 39:13–23.
- Bruijnzeel AW, Stam R, Wiegant VM. 2001. Effect of a benzodiazepine receptor agonist and corticotropin-releasing hormone receptor antagonists on long-term foot-shock-induced increase in defensive withdrawal behavior. *Psychopharmacology (Berl)* 158:132–139.
- Brunet A, Orr SP, Tremblay J, Robertson K, Nader K, Pitman RK. 2008. Effect of post-retrieval propranolol on psychophysiologic responding during subsequent script-driven traumatic imagery in post-traumatic stress disorder. *J Psychiatr Res* 42:503–506.
- Brunet A, Poundja J, Tremblay J, Bui E, Thomas E, Orr SP, Azzoug A, Birmes P, Pitman RK. 2011. Trauma reactivation under the influence of propranolol decreases posttraumatic stress symptoms and disorder: 3 open-label trials. *J Clin Psychopharmacol* 31:547–50.
- Bühler M, Vollstädt-Klein S, Klemen J, Smolka MN. 2008. Does erotic stimulus presentation design affect brain activation patterns? Event-related vs. blocked fMRI designs. *Behav Brain Funct* 4:30.
- Cadoni C, Pisanu A, Solinas M, Acquas E, Di Chiara G. 2001. Behavioural sensitization after repeated exposure to Delta 9-tetrahydrocannabinol and cross-sensitization with morphine. *Psychopharmacology (Berl)* 158:259–266.
- Cador M, Bjjou Y, Cailhol S, Stinus L. 1999. D-amphetamine-induced behavioral sensitization: implication of a glutamatergic medial prefrontal cortex-ventral tegmental area innervation. *Neuroscience* 94:705–721.
- Cahill L, Gorski L, Le K. 2003. Enhanced human memory consolidation with post-learning stress: interaction with the degree of arousal at encoding. *Learn Mem* 10:270–4.
- Calandreau L, Trifilieff P, Mons N, Costes L, Marien M, Marighetto A, Micheau J, Jaffard R, Desmedt A. 2006. Extracellular hippocampal acetylcholine level controls amygdala function and promotes adaptive conditioned emotional response. *J Neurosci* 26:13556–66.
- Canini F, Trousselard M. 2010. Les axes de recherche des états de stress post-traumatiques. *Perspect Psy*.

- Cannon WB. 1915. Bodily changes in pain, hunger, fear, and rage: An account of recent researches into the function of emotional excitement.
- Cannon WB. 1935. Stresses and strains of homeostasis. *Am J Med Sci* 189:13–14.
- Carrión VG, Haas BW, Garrett A, Song S, Reiss AL. 2010. Reduced hippocampal activity in youth with posttraumatic stress symptoms: an fMRI study. *J Pediatr Psychol* 35:559–69.
- Carrion VG, Weems CF, Ray RD, Glaser B, Hessel D, Reiss AL. 2002. Diurnal salivary cortisol in pediatric posttraumatic stress disorder. *Biol Psychiatry* 51:575–582.
- Chambers RA, Bremner JD, Moghaddam B, Southwick SM, Charney DS, Krystal JH. 1999. Glutamate and post-traumatic stress disorder: toward a psychobiology of dissociation. *Semin Clin Neuropsychiatry* 4:274–81.
- Chaouloff F. 2000. Serotonin, stress and corticoids. *J Psychopharmacol* 14:139–151.
- Di Chiara G, Imperato A. 1988. Drugs abused by humans preferentially increase synaptic dopamine concentrations in the mesolimbic system of freely moving rats. *Proc Natl Acad Sci U S A* 85:5274–5278.
- Chilcoat HD, Breslau N. 1998. Investigations of causal pathways between PTSD and drug use disorders. *Addict Behav* 23:827–40.
- Chopin M-V, Peretti C-S, Gisquet-Verrier P, Hoffmann C, Belaïd A, Chouinard G. 2016. Cocaine Use Disorder Treated with Specific Cognitive Behavioral Therapy and Adjunctive Propranolol. *Psychother Psychosom* 85:61–63.
- Chu JA, Frey LM, Ganzel BL, Matthews JA. 1999. Memories of childhood abuse: dissociation, amnesia, and corroboration. *Am J Psychiatry* 156:749–55.
- Chu NS, Bloom FE. 1974. Activity patterns of catecholamine-containing pontine neurons in the dorso-lateral tegmentum of unrestrained cats. *J Neurobiol* 5:527–544.
- Chu S, Downes JJ. 2002. Proust nose best: odors are better cues of autobiographical memory. *Mem Cognit* 30:511–518.
- Clement HW, Gemsa D, Wesemann W. 1992. Serotonin-norepinephrine interactions: a voltammetric study on the effect of serotonin receptor stimulation followed in the N. raphe dorsalis and the Locus coeruleus of the rat. *J Neural Transm Gen Sect* 88:11–23.
- Cleren C, Tallarida I, Guinieç E Le, Janin F, Nachon O, Canini F, Spennato G, Moreau J-L, Garcia R. 2013. Low-frequency stimulation of the ventral hippocampus facilitates extinction of contextual fear. *Neurobiol Learn Mem* 101:39–45.
- Coffey SF, Read JP, Norberg MM. 2008. Posttraumatic Stress Disorder and Substance Use Disorder: Neuroimaging, Neuroendocrine, and Psychophysiological Findings. (Stewart SH, Conrod PJ, editors.). Boston, MA: Springer US.
- Cohen H, Kaplan Z, Koresh O, Matar M a, Geva AB, Zohar J. 2011. Early post-stressor intervention with propranolol is ineffective in preventing posttraumatic stress responses in an animal model for PTSD. *Eur Neuropsychopharmacol* 21:230–40.
- Cohen H, Kozlovsky N, Alona C, Matar MA, Joseph Z. 2012a. Animal model for PTSD: from clinical concept to translational research. *Neuropharmacology* 62:715–724.
- Cohen H, Liu T, Kozlovsky N, Kaplan Z, Zohar J, Mathé AA. 2012b. The neuropeptide Y (NPY)-ergic system is associated with behavioral resilience to stress exposure in an animal model of post-traumatic stress disorder. *Neuropsychopharmacology* 37:350–63.
- Cohen H, Zohar J. 2004. An animal model of posttraumatic stress disorder: the use of cut-off behavioral criteria. *Ann N Y Acad Sci* 1032:167–178.
- Cohen H, Zohar J, Matar M. 2003. The relevance of differential response to trauma in an animal model of posttraumatic stress disorder. *Biol Psychiatry* 53:463–73.
- Comings DE, Comings BG, Muhleman D, Dietz G, Shahbahrani B, Tast D, Knell E, Kocsis P, Baumgarten R, Kovacs BW. 1991. The dopamine D2 receptor locus as a modifying gene in neuropsychiatric disorders. *JAMA* 266:1793–1800.

- Comings DE, Muhleman D, Gysin R. 1996. Dopamine D2 receptor (DRD2) gene and susceptibility to posttraumatic stress disorder: a study and replication. *Biol Psychiatry* 40:368–372.
- Constans JI, Vasterling JJ, Deitch E, Han X, Tharp ALT, Davis TD, Sullivan G. 2012. Pre-Katrina mental illness, postdisaster negative cognitions, and PTSD symptoms in male veterans following Hurricane Katrina. *Psychol Trauma Theory, Res Pract Policy* 4:568–577.
- Conti LH, Printz MP. 2003. Rat strain-dependent effects of repeated stress on the acoustic startle response. *Behav Brain Res* 144:11–18.
- Corral-Frias NS, Lahood RP, Edelman-Vogelsang KE, French ED, Fellous J-M. 2013. Involvement of the ventral tegmental area in a rodent model of post-traumatic stress disorder. *Neuropsychopharmacology* 38:350–63.
- Cottler LB, Nishith P, Compton WM. 2001. Gender differences in risk factors for trauma exposure and post-traumatic stress disorder among inner-city drug abusers in and out of treatment. *Compr Psychiatry* 42:111–7.
- Craske MG, Kircanski K, Zelikowsky M, Mystkowski J, Chowdhury N, Baker A. 2008. Optimizing inhibitory learning during exposure therapy. *Behav Res Ther* 46:5–27.
- Crocq L. 1999. *Traumatismes psychiques de guerre (Les)*. Odile Jaco.
- Cruz FC, Marin MT, Leão RM, Planeta CS. 2012. Stress-induced cross-sensitization to amphetamine is related to changes in the dopaminergic system. *J Neural Transm* 119:415–424.
- Cui H, Sakamoto H, Higashi S, Kawata M. 2008. Effects of single-prolonged stress on neurons and their afferent inputs in the amygdala. *Neuroscience* 152:703–712.
- D’Argembeau A, Comblain C, Van der Linden M. 2005. Affective valence and the self-reference effect: influence of retrieval conditions. *Br J Psychol* 96:457–66.
- Damasio A. 2003. *Spinoza avait raison; joie et tristesse, le cerveau des émotions*.
- Darracq L, Blanc G, Glowinski J, Tassin JP. 1998. Importance of the noradrenaline-dopamine coupling in the locomotor activating effects of D-amphetamine. *J Neurosci* 18:2729–2739.
- Davidson J, Kudler H, Smith R, Mahorney SL, Lipper S, Hammett E, Saunders WB, Cavenar JO. 1990. Treatment of posttraumatic stress disorder with amitriptyline and placebo. *Arch Gen Psychiatry* 47:259–266.
- Davidson J, Pearlstein T, Londeborg P, Brady KT, Rothbaum B, Bell J, Maddock R, Hegel MT, Farfel G. 2001. Efficacy of sertraline in preventing relapse of posttraumatic stress disorder: results of a 28-week double-blind, placebo-controlled study. *Am J Psychiatry* 158:1974–1981.
- Debiec J, Ledoux JE. 2004. Disruption of reconsolidation but not consolidation of auditory fear conditioning by noradrenergic blockade in the amygdala. *Neuroscience* 129:267–72.
- Debiec J, LeDoux JE. 2006. Noradrenergic signaling in the amygdala contributes to the reconsolidation of fear memory: treatment implications for PTSD. *Ann N Y Acad Sci* 1071:521–4.
- Decam L. 2012. *De la névrose traumatique à l’état de stress post-traumatique : étude d’une population de consultants aux urgences psychiatriques*.
- Dégeilh F, Viard A, Dayan J, Guérolé F, Egler P-J, Baleyte J-M, Eustache F, Guillery-Girard B. 2013. Altérations mnésiques dans l’état de stress post-traumatique: Résultats comportementaux et neuro-imagerie. *Rev Neuropsychol* 5:45–55.
- Delay J. 1949. Sur les explorations pharmacodynamiques en psychiatrie: narco-analyse et choc amphotaminique. *Proc R Soc Med* 42:491–496.
- Deroche-Gamonet V, Belin D, Piazza PV. 2004. Evidence for addiction-like behavior in the rat.



- Science 305:1014–1017.
- Deschaux O, Spennato G, Moreau J-L, Garcia R. 2011. Chronic treatment with fluoxetine prevents the return of extinguished auditory-cued conditioned fear. *Psychopharmacology (Berl)* 215:231–7.
- Desmedt A, Garcia R, Jaffard R. 1998. Differential modulation of changes in hippocampal–septal synaptic excitability by the amygdala as a function of either elemental or contextual fear conditioning in mice. *J Neurosci*.
- Desmedt A, Marighetto A, Piazza P-V. 2015. Abnormal fear memory as a model for Post Traumatic Stress Disorder. *Biol Psychiatry* 78:290–7.
- Devauges V, Sara SJ. 1991. Memory retrieval enhancement by locus coeruleus stimulation: evidence for mediation by beta-receptors. *Behav Brain Res* 43:93–97.
- Deweer B, Sara SJ. 1985. Alleviation of forgetting by pretest contextual cueing in rats. *Ann N Y Acad Sci* 444:507–509.
- Díaz-Otañez CS, Capriles NR, Cancela LM. 1997. D1 and D2 dopamine and opiate receptors are involved in the restraint stress-induced sensitization to the psychostimulant effects of amphetamine. *Pharmacol Biochem Behav* 58:9–14.
- Dietz DM, Dietz KC, Moore S, Ouimet CC, Kabbaj M. 2008. Repeated social defeat stress-induced sensitization to the locomotor activating effects of d-amphetamine: role of individual differences. *Psychopharmacology (Berl)* 198:51–62.
- Doblin R. 2002. A clinical plan for MDMA (Ecstasy) in the treatment of posttraumatic stress disorder (PTSD): partnering with the FDA. *J Psychoactive Drugs* 34:185–194.
- Doucet EL, Bobadilla A-C, Houades V, Lanteri C, Godeheu G, Lanfumey L, Sara SJ, Tassin J-P. 2013. Sustained impairment of  $\alpha$ 2A-adrenergic autoreceptor signaling mediates neurochemical and behavioral sensitization to amphetamine. *Biol Psychiatry* 74:90–8.
- Drouin C, Blanc G, Trovero F, Glowinski J, Tassin JP. 2001. Cortical alpha 1-adrenergic regulation of acute and sensitized morphine locomotor effects. *Neuroreport* 12:3483–3486.
- Duffy JD, Malloy PF. 1994. Efficacy of buspirone in the treatment of posttraumatic stress disorder: an open trial. *Ann Clin Psychiatry* 6:33–7.
- Dugovic C. 2001. Role of serotonin in sleep mechanisms. *Rev Neurol (Paris)* 157:S16–9.
- Dunsmoor JE, Murty VP, Davachi L, Phelps EA. 2015. Emotional learning selectively and retroactively strengthens memories for related events. *Nature* 520:345–8.
- Dunsmoor JE, Paz R. 2015. Fear Generalization and Anxiety: Behavioral and Neural Mechanisms. *Biol Psychiatry* 78:336–343.
- Durant C, Christmas D, Nutt D. 2010. The pharmacology of anxiety. *Curr Top Behav Neurosci* 2:303–30.
- Duval F, Crocq M-A, Guillon M-S, Mokrani M-C, Monreal J, Bailey P, Macher J-P. 2004. Increased adrenocorticotropin suppression following dexamethasone administration in sexually abused adolescents with posttraumatic stress disorder. *Psychoneuroendocrinology* 29:1281–1289.
- Eagle AL, Fitzpatrick CJ, Perrine SA. 2013. Single prolonged stress impairs social and object novelty recognition in rats. *Behav Brain Res* 256:591–597.
- Eagle AL, Singh R, Kohler RJ, Friedman AL, Liebowitz CP, Galloway MP, Enman NM, Jutkiewicz EM, Perrine SA. 2015. Single prolonged stress effects on sensitization to cocaine and cocaine self-administration in rats. *Behav Brain Res* 284:218–24.
- Ehlers A, Clark DM. 2000. A cognitive model of posttraumatic stress disorder. *Behav Res Ther* 38:319–45.
- Ehlers A, Hackmann A, Michael T. 2004. Intrusive re-experiencing in post-traumatic stress disorder: phenomenology, theory, and therapy. *Memory* 12:403–15.

- Enman NM, Arthur K, Ward SJ, Perrine SA, Unterwald EM. 2015. Anhedonia, Reduced Cocaine Reward, and Dopamine Dysfunction in a Rat Model of Posttraumatic Stress Disorder. *Biol Psychiatry*.
- Etkin A, Egner T, Kalisch R. 2011. Emotional processing in anterior cingulate and medial prefrontal cortex. *Trends Cogn Sci* 15:85–93.
- Etkin A, Wager TD. 2007. Functional neuroimaging of anxiety: a meta-analysis of emotional processing in PTSD, social anxiety disorder, and specific phobia. *Am J Psychiatry* 164:1476–88.
- Falconer E, Bryant R, Felmingham KL, Kemp AH, Gordon E, Peduto A, Olivieri G, Williams LM. 2008. The neural networks of inhibitory control in posttraumatic stress disorder. *J Psychiatry Neurosci* 33:413–422.
- Famularo R, Kinscherff R, Fenton T. 1988. Propranolol treatment for childhood posttraumatic stress disorder, acute type. A pilot study. *Am J Dis Child* 142:1244–1247.
- Fassino S, Daga GA, Delsedime N, Rogna L, Boggio S. 2004. Quality of life and personality disorders in heroin abusers. *Drug Alcohol Depend* 76:73–80.
- Feenstra MG. 2000. Dopamine and noradrenaline release in the prefrontal cortex in relation to unconditioned and conditioned stress and reward. *Prog Brain Res* 126:133–163.
- Feltenstein MW, See RE. 2006. Potentiation of cue-induced reinstatement of cocaine-seeking in rats by the anxiogenic drug yohimbine. *Behav Brain Res* 174:1–8.
- Finn B, Roediger HL. 2011. Enhancing retention through reconsolidation: negative emotional arousal following retrieval enhances later recall. *Psychol Sci* 22:781–786.
- Foa E, Hembree E, Rothbaum B. 2007. Prolonged exposure therapy for PTS: Emotional processing of traumatic experiences.
- Foa EB, Hembree EA, Cahill SP, Rauch SAM, Riggs DS, Feeny NC, Yadin E. 2005. Randomized trial of prolonged exposure for posttraumatic stress disorder with and without cognitive restructuring: outcome at academic and community clinics. *J Consult Clin Psychol* 73:953–964.
- Foa EB, Zinbarg R, Rothbaum BO. 1992. Uncontrollability and unpredictability in post-traumatic stress disorder: an animal model. *Psychol Bull* 112:218–38.
- Frick A, Åhs F, Palmquist ÅM, Pissiotta A, Wallenquist U, Fernandez M, Jonasson M, Appel L, Frans Ö, Lubberink M, Furmark T, von Knorring L, Fredrikson M. 2015. Overlapping expression of serotonin transporters and neurokinin-1 receptors in posttraumatic stress disorder: a multi-tracer PET study. *Mol Psychiatry*.
- Galatzer-Levy IR, Moscarello J, Blessing EM, Klein J, Cain CK, LeDoux JE. 2014. Heterogeneity in signaled active avoidance learning: substantive and methodological relevance of diversity in instrumental defensive responses to threat cues. *Front Syst Neurosci* 8:179.
- Galici R, Pechnick RN, Poland RE, France CP. 2000. Comparison of noncontingent versus contingent cocaine administration on plasma corticosterone levels in rats. *Eur J Pharmacol* 387:59–62.
- Ganon-Elazar E, Akirav I. 2012. Cannabinoids prevent the development of behavioral and endocrine alterations in a rat model of intense stress. *Neuropsychopharmacology* 37:456–466.
- Garcia-Keller C, Martinez SA, Esparza MA, Bollati F, Kalivas PW, Cancela LM. 2013. Cross-sensitization between cocaine and acute restraint stress is associated with sensitized dopamine but not glutamate release in the nucleus accumbens. *Eur J Neurosci* 37:982–995.
- Garratt JC, Crespi F, Mason R, Marsden CA. 1991. Effects of idazoxan on dorsal raphe 5-hydroxytryptamine neuronal function. *Eur J Pharmacol* 193:87–93.
- Gartside SE, Umbers V, Hajós M, Sharp T. 1995. Interaction between a selective 5-HT1A

- receptor antagonist and an SSRI in vivo: effects on 5-HT cell firing and extracellular 5-HT. *Br J Pharmacol* 115:1064–1070.
- George SA, Rodriguez-Santiago M, Riley J, Rodriguez E, Liberzon I. 2015. The effect of chronic phenytoin administration on single prolonged stress induced extinction retention deficits and glucocorticoid upregulation in the rat medial prefrontal cortex. *Psychopharmacology (Berl)* 232:47–56.
- Geraciotti TD, Loosen PT, Ekhaton NN, Schmidt D, Chambliss B, Baker DG, Kasckow JW, Richtand NM, Keck PE, Ebert MH. 1997. Uncoupling of serotonergic and noradrenergic systems in depression: preliminary evidence from continuous cerebrospinal fluid sampling. *Depress Anxiety* 6:89–94.
- Geuze E, van Berckel BNM, Lammertsma AA, Boellaard R, de Kloet CS, Vermetten E, Westenberg HGM. 2008. Reduced GABAA benzodiazepine receptor binding in veterans with post-traumatic stress disorder. *Mol Psychiatry* 13:3,74-83.
- Gilbertson MW, Shenton ME, Ciszewski A, Kasai K, Lasko NB, Orr SP, Pitman RK. 2002. Smaller hippocampal volume predicts pathologic vulnerability to psychological trauma. *Nat Neurosci* 5:1242–1247.
- Gillespie CF, Phifer J, Bradley B, Ressler KJ. 2009. Risk and resilience: genetic and environmental influences on development of the stress response. *Depress Anxiety* 26:984–992.
- Gisquet-Verrier P. 2009. Hypersensitivity to cue-elicited memory reactivation as a possible source for psychiatric pathologies such as relapse to drug addiction and post traumatic. In: Sylvie Granon, editor. *Endophenotypes of Psychiatric and Neurodegenerative Disorders in Rodent Models*. . p 41–82.
- Gisquet-Verrier P, Boteau F, Venero C, Sandi C. 2004. Exposure to retrieval cues improves retention performance and induces changes in ACTH and corticosterone release. *Psychoneuroendocrinology* 29:529–556.
- Gisquet-Verrier P, Dekeyne A, Alexinsky T. 1989. Differential effects of several retrieval cues over time: Evidence for time-dependent reorganization of memory. *Anim Learn Behav* 17:394–408.
- Gisquet-Verrier P, Lynch JF, Cutolo P, Toledano D, Ulmen A, Jasnow AM, Riccio DC. 2015. Integration of New Information with Active Memory Accounts for Retrograde Amnesia: A Challenge to the Consolidation/Reconsolidation Hypothesis? *J Neurosci* 35:11623–11633.
- Gisquet-Verrier P, Riccio DC. 2012. Memory reactivation effects independent of reconsolidation. *Learn Mem* 19:401–409.
- Gisquet-Verrier P, Schenk F. 1994. Selective hippocampal lesions in rats do not affect retrieval processes promoted by prior cuing with the conditioned stimulus or the context. *Psychobiology* 22:289–303.
- Goenjian AK, Najarian LM, Pynoos RS, Steinberg AM, Manoukian G, Tamosian A, Fairbanks LA. 1994. Posttraumatic stress disorder in elderly and younger adults after the 1988 earthquake in Armenia. *Am J Psychiatry* 151:895–901.
- Goenjian AK, Yehuda R, Pynoos RS, Steinberg AM, Tashjian M, Yang RK, Najarian LM, Fairbanks LA. 1996. Basal cortisol, dexamethasone suppression of cortisol, and MHPG in adolescents after the 1988 earthquake in Armenia. *Am J Psychiatry* 153:929–934.
- Goldstein LE, Rasmusson AM, Bunney BS, Roth RH. 1996. Role of the amygdala in the coordination of behavioral, neuroendocrine, and prefrontal cortical monoamine responses to psychological stress in the rat. *J Neurosci* 16:4787–4798.
- Goldstein RZ, Volkow ND. 2011. Dysfunction of the prefrontal cortex in addiction: neuroimaging findings and clinical implications. *Nat Rev Neurosci* 12:652–669.

- Golub Y, Mauch CP, Dahlhoff M, Wotjak CT. 2009. Consequences of extinction training on associative and non-associative fear in a mouse model of Posttraumatic Stress Disorder (PTSD). *Behav Brain Res* 205:544–9.
- Gonzales M, Garrett C, Chapman CD, Dess NK. 2008. Stress-induced attenuation of acoustic startle in low-saccharin-consuming rats. *Biol Psychol* 79:193–9.
- Goodman J, Leong K-C, Packard MG. 2012. Emotional modulation of multiple memory systems: implications for the neurobiology of post-traumatic stress disorder. *Rev Neurosci* 23:627–43.
- Gordon W. 1981. Mechanisms of cue-induced retention enhancement. *Process Anim Mem Mech*.
- Gorea E, Davenne D, Lanfumey L, Chastanet M, Adrien J. 1991. Regulation of noradrenergic coerulean neuronal firing mediated by 5-HT<sub>2</sub> receptors: involvement of the prepositus hypoglossal nucleus. *Neuropharmacology* 30:1309–18.
- Grant S, London ED, Newlin DB, Villemagne VL, Liu X, Contoreggi C, Phillips RL, Kimes AS, Margolin A. 1996. Activation of memory circuits during cue-elicited cocaine craving. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93:12040–12045.
- Greenberg N, Brooks S, Dunn R. 2015. Latest developments in post-traumatic stress disorder: diagnosis and treatment. *Br Med Bull*.
- Greer G, Tolbert R. 1986. Subjective reports of the effects of MDMA in a clinical setting. *J Psychoactive Drugs* 18:319–327.
- Guastella AJ, Howard AL, Dadds MR, Mitchell P, Carson DS. 2009. A randomized controlled trial of intranasal oxytocin as an adjunct to exposure therapy for social anxiety disorder. *Psychoneuroendocrinology* 34:917–923.
- Gujar N, McDonald SA, Nishida M, Walker MP. 2011. A role for REM sleep in recalibrating the sensitivity of the human brain to specific emotions. *Cereb Cortex* 21:115–123.
- Haddjeri N, de Montigny C, Blier P. 1997. Modulation of the firing activity of noradrenergic neurones in the rat locus coeruleus by the 5-hydroxytryptamine system. *Br J Pharmacol* 120:865–875.
- Hajós M, Gartside SE, Sharp T. 1995. Inhibition of median and dorsal raphe neurones following administration of the selective serotonin reuptake inhibitor paroxetine. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 351:624–9.
- Halligan SL, Michael T, Clark DM, Ehlers A. 2003. Posttraumatic stress disorder following assault: the role of cognitive processing, trauma memory, and appraisals. *J Consult Clin Psychol* 71:419–31.
- Hammels C, Pishva E, De Vry J, van den Hove DLA, Prickaerts J, van Winkel R, Selten J-P, Lesch K-P, Daskalakis NP, Steinbusch HWM, van Os J, Kenis G, Rutten BPF. 2015. Defeat stress in rodents: From behavior to molecules. *Neurosci Biobehav Rev* 59:111–140.
- Hamner MB, Diamond BI. 1993. Elevated plasma dopamine in posttraumatic stress disorder: A preliminary report. *Biol Psychiatry* 33:304–306.
- Harada K, Yamaji T, Matsuoka N. 2008. Activation of the serotonin 5-HT<sub>2C</sub> receptor is involved in the enhanced anxiety in rats after single-prolonged stress. *Pharmacol Biochem Behav* 89:11–16.
- Hars B. 1980. Consolidation, rappel, réactivation. *Annee Psychol* 80:237–265.
- Harvey BH, Brand L, Jeeva Z, Stein DJ. 2006. Cortical/hippocampal monoamines, HPA-axis changes and aversive behavior following stress and restress in an animal model of post-traumatic stress disorder. *Physiol Behav* 87:881–890.
- Harvey BH, Naciti C, Brand L, Stein DJ. 2003. Endocrine, cognitive and hippocampal/cortical 5HT 1A/2A receptor changes evoked by a time-dependent sensitisation (TDS) stress model in rats. *Brain Res* 983:97–107.

- Harvey BH, Naciti C, Brand L, Stein DJ. 2004a. Serotonin and stress: protective or malevolent actions in the biobehavioral response to repeated trauma? *Ann N Y Acad Sci* 1032:267–272.
- Harvey BH, Oosthuizen F, Brand L, Wegener G, Stein DJ. 2004b. Stress-restress evokes sustained iNOS activity and altered GABA levels and NMDA receptors in rat hippocampus. *Psychopharmacology (Berl)* 175:494–502.
- HAS. 2015. Affections psychiatriques de longue durée, Troubles anxieux graves.
- Hawley WR, Grissom EM, Belkin MN, James TF, Dohanich GP. 2013. Decreased sexual motivation and heightened anxiety in male Long-Evans rats are correlated with the memory for a traumatic event. *Arch Sex Behav* 42:659–68.
- Heinrichs M, Baumgartner T, Kirschbaum C, Ehlert U. 2003. Social support and oxytocin interact to suppress cortisol and subjective responses to psychosocial stress. *Biol Psychiatry* 54:1389–1398.
- Hendrickson RC, Raskind MA. 2016. Noradrenergic dysregulation in the pathophysiology of PTSD. *Exp Neurol*.
- Herman JP, Stinus L, Le Moal M. 1984. Repeated stress increases locomotor response to amphetamine. *Psychopharmacology (Berl)* 84:431–435.
- Herpertz SC, Bertsch K. 2016. Oxytocin Effects on Brain Functioning in Humans. *Biol Psychiatry* 79:631–632.
- Hertzberg MA, Feldman ME, Beckham JC, Kudler HS, Davidson JR. 2000. Lack of efficacy for fluoxetine in PTSD: a placebo controlled trial in combat veterans. *Ann Clin Psychiatry* 12:101–105.
- Herz RS, Schooler JW. 2002. A naturalistic study of autobiographical memories evoked by olfactory and visual cues: testing the Proustian hypothesis. *Am J Psychol* 115:21–32.
- Hien D, Cohen L, Campbell A. 2005. Is traumatic stress a vulnerability factor for women with substance use disorders? *Clin Psychol Rev* 25:813–23.
- Hinson RE, Poulos CX. 1981. Sensitization to the behavioral effects of cocaine: modification by Pavlovian conditioning. *Pharmacol Biochem Behav* 15:559–62.
- Hinton DE, Pich V, Chhean D, Pollack MH, Barlow DH. 2004. Olfactory-triggered panic attacks among Cambodian refugees attending a psychiatric clinic. *Gen Hosp Psychiatry* 26:390–397.
- Hofmann SG. 2008. Cognitive processes during fear acquisition and extinction in animals and humans: implications for exposure therapy of anxiety disorders. *Clin Psychol Rev* 28:199–210.
- Houlihan DJ. 2011. Psychostimulant treatment of combat-related posttraumatic stress disorder. *J Psychopharmacol* 25:1568–1572.
- Hupbach A, Gomez R, Hardt O, Nadel L. 2007. Reconsolidation of episodic memories: a subtle reminder triggers integration of new information. *Learn Mem* 14:47–53.
- Hupbach A, Hardt O, Gomez R, Nadel L. 2008. The dynamics of memory: context-dependent updating. *Learn Mem* 15:574–579.
- Imanaka A, Morinobu S, Toki S, Yamawaki S. 2006. Importance of early environment in the development of post-traumatic stress disorder-like behaviors. *Behav Brain Res* 173:129–137.
- Inda MC, Muravieva E V, Alberini CM. 2011. Memory retrieval and the passage of time: from reconsolidation and strengthening to extinction. *J Neurosci* 31:1635–43.
- Ipsler J, Stein D. 2012. Evidence-based pharmacotherapy of post-traumatic stress disorder (PTSD). *Int J*.
- Isaac CL, Cushway D, Jones G V. 2006. Is posttraumatic stress disorder associated with specific deficits in episodic memory? *Clin Psychol Rev* 26:939–955.

- Iwamoto Y, Morinobu S, Takahashi T, Yamawaki S. 2007. Single prolonged stress increases contextual freezing and the expression of glycine transporter 1 and vesicle-associated membrane protein 2 mRNA in the hippocampus of rats. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 31:642–651.
- Jacobsen LK, Southwick SM, Kosten TR. 2001. Substance use disorders in patients with posttraumatic stress disorder: a review of the literature. *Am J Psychiatry* 158:1184–90.
- Jarome TJ, Ferrara NC, Kwapis JL, Helmstetter FJ. 2015. Contextual Information Drives the Reconsolidation-Dependent Updating of Retrieved Fear Memories. *Neuropsychopharmacology* 40:3044–52.
- Jarome TJ, Ferrara NC, Kwapis JL, Helmstetter FJ. 2016. CaMKII regulates proteasome phosphorylation and activity and promotes memory destabilization following retrieval. *Neurobiol Learn Mem* 128:103–9.
- Jasinska AJ, Stein EA, Kaiser J, Naumer MJ, Yalachkov Y. 2014. Factors modulating neural reactivity to drug cues in addiction: a survey of human neuroimaging studies. *Neurosci Biobehav Rev* 38:1–16.
- Jedema HP, Gold SJ, Gonzalez-Burgos G, Sved AF, Tobe BJ, Wensel T, Grace AA. 2008. Chronic cold exposure increases RGS7 expression and decreases alpha(2)-autoreceptor-mediated inhibition of noradrenergic locus coeruleus neurons. *Eur J Neurosci* 27:2433–43.
- Jedema HP, Grace AA. 2003. Chronic exposure to cold stress alters electrophysiological properties of locus coeruleus neurons recorded in vitro. *Neuropsychopharmacology* 28:63–72.
- Jiang X, Xing G, Yang C, Verma A, Zhang L, Li H. 2009. Stress Impairs 5-HT<sub>2A</sub> Receptor-Mediated Serotonergic Facilitation of GABA Release in Juvenile Rat Basolateral Amygdala. *Neuropsychopharmacology* 34:410–423.
- Jin X-C, Lu Y-F, Yang X-F, Ma L, Li B-M. 2007. Glucocorticoid receptors in the basolateral nucleus of amygdala are required for postreactivation reconsolidation of auditory fear memory. *Eur J Neurosci* 25:3702–12.
- Johnson DW, Glick SD. 1993. Dopamine release and metabolism in nucleus accumbens and striatum of morphine-tolerant and nontolerant rats. *Pharmacol Biochem Behav* 46:341–347.
- Johnson LR, McGuire J, Lazarus R, Palmer AA. 2012. Pavlovian fear memory circuits and phenotype models of PTSD. *Neuropharmacology* 62:638–646.
- Johnson TR, Smerkers B, Moulder JK, Stellar JR, Febo M. 2013. Neural processing of a cocaine-associated odor cue revealed by functional MRI in awake rats. *Neurosci Lett* 534:160–5.
- de Jong IEM, de Kloet ER. 2004. Glucocorticoids and vulnerability to psychostimulant drugs: toward substrate and mechanism. *Ann N Y Acad Sci* 1018:192–198.
- de Jong JG, Wasilewski M, van der Vegt BJ, Buwalda B, Koolhaas JM. 2005. A single social defeat induces short-lasting behavioral sensitization to amphetamine. *Physiol Behav* 83:805–811.
- Jovanovic T, Ely T, Fani N, Glover EM, Gutman D, Tone EB, Norrholm SD, Bradley B, Ressler KJ. 2012. Reduced neural activation during an inhibition task is associated with impaired fear inhibition in a traumatized civilian sample. *Cortex* 49:1884–91.
- Jovanovic T, Norrholm SD, Fennell JE, Keyes M, Fiallos AM, Myers KM, Davis M, Duncan EJ. 2009. Posttraumatic stress disorder may be associated with impaired fear inhibition: Relation to symptom severity. *Psychiatry Res* 167:151–160.
- Kaang B-K, Choi J-H. 2011. Protein Degradation during Reconsolidation as a Mechanism for Memory Reorganization. *Front Behav Neurosci* 5:2.

- Kalivas PW. 2004. Glutamate systems in cocaine addiction. *Curr Opin Pharmacol* 4:23–9.
- Kalivas PW, Duffy P. 1993. Time course of extracellular dopamine and behavioral sensitization to cocaine. I. Dopamine axon terminals. *J Neurosci* 13:266–275.
- Kalivas PW, Stewart J. 1991. Dopamine transmission in the initiation and expression of drug- and stress-induced sensitization of motor activity. *Brain Res Brain Res Rev* 16:223–244.
- Kalivas PW, Volkow ND. 2005. The neural basis of addiction: a pathology of motivation and choice. *Am J Psychiatry* 162:1403–1413.
- Kalivas PW, Weber B. 1988. Amphetamine injection into the ventral mesencephalon sensitizes rats to peripheral amphetamine and cocaine. *J Pharmacol Exp Ther* 245:1095–1102.
- Kampman KM, Volpicelli JR, Mulvaney F, Alterman AI, Cornish J, Gariti P, Cnaan A, Poole S, Muller E, Acosta T, Luce D, O'Brien C. 2001. Effectiveness of propranolol for cocaine dependence treatment may depend on cocaine withdrawal symptom severity. *Drug Alcohol Depend* 63:69–78.
- Kao C-Y, Stalla G, Stalla J, Wotjak CT, Anderzhanova E. 2015. Norepinephrine and corticosterone in the medial prefrontal cortex and hippocampus predict PTSD-like symptoms in mice. *Eur J Neurosci* 41:1139–48.
- Kaouane N. 2010. Mémoire émotionnelle normale et pathologique: implication des glucocorticoïdes intra-hippocampiques.
- Kaouane N, Porte Y, Vallée M, Brayda-Bruno L, Mons N, Calandreau L, Marighetto A, Piazza PV, Desmedt A. 2012. Glucocorticoids can induce PTSD-like memory impairments in mice. *Science* 335:1510–3.
- Kar N. 2011. Cognitive behavioral therapy for the treatment of post-traumatic stress disorder: a review. *Neuropsychiatr Dis Treat* 7:167–181.
- Kasai K, Yamasue H, Gilbertson MW, Shenton ME, Rauch SL, Pitman RK. 2008. Evidence for acquired pregenual anterior cingulate gray matter loss from a twin study of combat-related posttraumatic stress disorder. *Biol Psychiatry* 63:550–556.
- Kearns M, Rothbaum A, Youngner C. 2015. Cutting Edge Research on Prevention of PTSD. *Futur Dir Post*.
- Keller SM, Schreiber WB, Staib JM, Knox D. 2015a. Sex differences in the single prolonged stress model. *Behav Brain Res* 286:29–32.
- Keller SM, Schriber WB, Stanfield BR, Knox D. 2015b. Inhibiting corticosterone synthesis during fear memory formation exacerbates cued fear extinction memory deficits within the single prolonged stress model. *Behav Brain Res* 287:182–186.
- Kellner M, Baker DG, Yehuda R. 1997. Salivary cortisol and PTSD symptoms in Persian Gulf War combatants. *Ann N Y Acad Sci* 821:442–443.
- Kennett GA, Whitton P, Shah K, Curzon G. 1989. Anxiogenic-like effects of mCPP and TFMPP in animal models are opposed by 5-HT<sub>1C</sub> receptor antagonists. *Eur J Pharmacol* 164:445–54.
- Kesner Y, Zohar J, Merenlender A, Gispan I, Shalit F, Yadid G. 2009. WFS1 gene as a putative biomarker for development of post-traumatic syndrome in an animal model. *Mol Psychiatry* 14:86–94.
- Kessler RC, Sonnega A, Bromet E, Hughes M, Nelson CB. 1995. Posttraumatic stress disorder in the National Comorbidity Survey. *Arch Gen Psychiatry* 52:1048–1060.
- Khan S, Liberzon I. 2004. Topiramate attenuates exaggerated acoustic startle in an animal model of PTSD. *Psychopharmacology (Berl)* 172:225–229.
- Kilpatrick DG, Koenen KC, Ruggiero KJ, Acierno R, Galea S, Resnick HS, Roitzsch J, Boyle J, Gelernter J. 2007. The serotonin transporter genotype and social support and moderation of posttraumatic stress disorder and depression in hurricane-exposed

- adults. *Am J Psychiatry* 164:1693–1699.
- Kleim B, Wallott F, Ehlers A. 2008. Are Trauma Memories Disjointed from other Autobiographical Memories in Posttraumatic Stress Disorder? An Experimental Investigation. *Behav Cogn Psychother* 36:221–34.
- de Kloet ER, Joëls M, Holsboer F. 2005. Stress and the brain: from adaptation to disease. *Nat Rev Neurosci* 6:463–475.
- Klorman R, Cicchetti D, Thatcher JE, Ison JR. 2003. Acoustic startle in maltreated children. *J Abnorm Child Psychol* 31:359–370.
- Knox D, Nault T, Henderson C, Liberzon I. 2012. Glucocorticoid receptors and extinction retention deficits in the single prolonged stress model. *Neuroscience* 223:163–173.
- Knox D, Perrine S a, George S a, Galloway MP, Liberzon I. 2010. Single prolonged stress decreases glutamate, glutamine, and creatine concentrations in the rat medial prefrontal cortex. *Neurosci Lett* 480:16–20.
- Koen N, Stein DJ. 2011. Pharmacotherapy of anxiety disorders: a critical review. *Dialogues Clin Neurosci* 13:423–37.
- Koenen KC, Uddin M, Chang S-C, Aiello AE, Wildman DE, Goldmann E, Galea S. 2011. SLC6A4 methylation modifies the effect of the number of traumatic events on risk for posttraumatic stress disorder. *Depress Anxiety* 28:639–647.
- Kohda K, Harada K, Kato K, Hoshino a, Motohashi J, Yamaji T, Morinobu S, Matsuoka N, Kato N. 2007. Glucocorticoid receptor activation is involved in producing abnormal phenotypes of single-prolonged stress rats: a putative post-traumatic stress disorder model. *Neuroscience* 148:22–33.
- Kolassa I-T, Kolassa S, Ertl V, Papassotiropoulos A, De Quervain DJ-F. 2010. The risk of posttraumatic stress disorder after trauma depends on traumatic load and the catechol-o-methyltransferase Val(158)Met polymorphism. *Biol Psychiatry* 67:304–308.
- Koolhaas JM, Bartolomucci a, Buwalda B, de Boer SF, Flügge G, Korte SM, Meerlo P, Murison R, Olivier B, Palanza P, Richter-Levin G, Sgoifo a, Steimer T, Stiedl O, van Dijk G, Wöhr M, Fuchs E. 2011. Stress revisited: a critical evaluation of the stress concept. *Neurosci Biobehav Rev* 35:1291–1301.
- Korem N, Akirav I. 2014. Cannabinoids prevent the effects of a footshock followed by situational reminders on emotional processing. *Neuropsychopharmacology* 39:2709–22.
- Kosfeld M, Heinrichs M, Zak PJ, Fischbacher U, Fehr E. 2005. Oxytocin increases trust in humans. *Nature* 435:673–6.
- Kosten TR, Frank JB, Dan E, McDougle CJ, Giller EL. 1991. Pharmacotherapy for posttraumatic stress disorder using phenelzine or imipramine. *J Nerv Ment Dis* 179:366–370.
- Kozlovsky N, Matar MA, Kaplan Z, Zohar J, Cohen H. 2009. A distinct pattern of intracellular glucocorticoid-related responses is associated with extreme behavioral response to stress in an animal model of post-traumatic stress disorder. *Eur Neuropsychopharmacol* 19:759–771.
- Kremen WS, Koenen KC, Boake C, Purcell S, Eisen SA, Franz CE, Tsuang MT, Lyons MJ. 2007. Pretrauma cognitive ability and risk for posttraumatic stress disorder: a twin study. *Arch Gen Psychiatry* 64:361–368.
- Kroes MCW, Tona K-D, den Ouden HEM, Vogel S, van Wingen GA, Fernández G. 2016. How Administration of the Beta-Blocker Propranolol Before Extinction can Prevent the Return of Fear. *Neuropsychopharmacology* 41:1569–78.
- Krystal JH, Neumeister A. 2009. Noradrenergic and serotonergic mechanisms in the neurobiology of posttraumatic stress disorder and resilience. *Brain Res* 1293:13–23.
- Kuroki T, Meltzer HY, Ichikawa J. 2003. 5-HT 2A receptor stimulation by DOI, a 5-HT 2A/2C



- receptor agonist, potentiates amphetamine-induced dopamine release in rat medial prefrontal cortex and nucleus accumbens. *Brain Res* 972:216–21.
- LaBar KS, Gatenby JC, Gore JC, LeDoux JE, Phelps E a. 1998. Human amygdala activation during conditioned fear acquisition and extinction: a mixed-trial fMRI study. *Neuron* 20:937–45.
- Lane P. 1994. Critical incident stress debriefing for health care workers. *OMEGA-Journal of Death and Dying*.
- Lanteri C, Salomon L, Torrens Y, Glowinski J, Tassin J-P. 2008. Drugs of abuse specifically sensitize noradrenergic and serotonergic neurons via a non-dopaminergic mechanism. *Neuropsychopharmacology* 33:1724–1734.
- Layton B, Ph D, Krikorian R. 2002. Memory Mechanisms in Disorder. :254–261.
- Le A, Funk D, Coen K, Li Z, Shaham Y. 2013. Role of corticotropin-releasing factor in the median raphe nucleus in yohimbine-induced reinstatement of alcohol seeking in rats. *Addict Biol*.
- Lee H, Kwak S, Paik J, Kang R, Lee M. 2007. Association between serotonin 2A receptor gene polymorphism and posttraumatic stress disorder. *Psychiatry Investig* 4:104.
- Lee JLC. 2010. Memory reconsolidation mediates the updating of hippocampal memory content. *Front Behav Neurosci* 4:168.
- Lee S-H, Choi J-H, Lee N, Lee H-R, Kim J-I, Yu N-K, Choi S-L, Lee S-H, Kim H, Kaang B-K. 2008. Synaptic protein degradation underlies destabilization of retrieved fear memory. *Science* 319:1253–1256.
- Lemieux AM, Coe CL. 1995. Abuse-related posttraumatic stress disorder: evidence for chronic neuroendocrine activation in women. *Psychosom Med* 57:105–115.
- Lewis DJ. 1969. Sources of experimental amnesia. *Psychol Rev* 76:461–472.
- Lewis DJ. 1979. Psychobiology of active and inactive memory. *Psychol Bull* 86:1054–1083.
- Li Q-H, Nakadate K, Tanaka-Nakadate S, Nakatsuka D, Cui Y, Watanabe Y. 2004. Unique expression patterns of 5-HT<sub>2A</sub> and 5-HT<sub>2C</sub> receptors in the rat brain during postnatal development: Western blot and immunohistochemical analyses. *J Comp Neurol* 469:128–140.
- Li XM, Han F, Liu DJ, Shi YX. 2010. Single-prolonged stress induced mitochondrial-dependent apoptosis in hippocampus in the rat model of post-traumatic stress disorder. *J Chem Neuroanat* 40:248–255.
- Li Y, Han F, Shi Y. 2013. Increased neuronal apoptosis in medial prefrontal cortex is accompanied with changes of Bcl-2 and Bax in a rat model of post-traumatic stress disorder. *J Mol Neurosci* 51:127–137.
- Liberzon I, Abelson JL, Flagel SB, Raz J, Young EA. 1999a. Neuroendocrine and psychophysiologic responses in PTSD: a symptom provocation study. *Neuropsychopharmacology* 21:40–50.
- Liberzon I, King AP, Ressler KJ, Almlı LM, Zhang P, Ma ST, Cohen GH, Tamburrino MB, Calabrese JR, Galea S. 2014. Interaction of the ADRB2 gene polymorphism with childhood trauma in predicting adult symptoms of posttraumatic stress disorder. *JAMA psychiatry* 71:1174–82.
- Liberzon I, Krstov M, Young E a. 1997. Stress-restress: effects on ACTH and fast feedback. *Psychoneuroendocrinology* 22:443–453.
- Liberzon I, López JF, Flagel SB, Vázquez DM, Young E a. 1999b. Differential regulation of hippocampal glucocorticoid receptors mRNA and fast feedback: relevance to post-traumatic stress disorder. *J Neuroendocrinol* 11:11–17.
- Liberzon I, Taylor SF, Amdur R, Jung TD, Chamberlain KR, Minoshima S, Koeppe RA, Fig LM. 1999c. Brain activation in PTSD in response to trauma-related stimuli. *Biol Psychiatry*

45:817–826.

- Lin C-C, Tung C-S, Liu Y-P. 2016. Escitalopram reversed the traumatic stress-induced depressed and anxiety-like symptoms but not the deficits of fear memory. *Psychopharmacology (Berl)* 233:1135–46.
- Lindley SE, Carlson EB, Benoit M. 2004. Basal and dexamethasone suppressed salivary cortisol concentrations in a community sample of patients with posttraumatic stress disorder. *Biol Psychiatry* 55:940–945.
- Lissek S, Powers AS, McClure EB, Phelps EA, Woldehawariat G, Grillon C, Pine DS. 2005. Classical fear conditioning in the anxiety disorders: a meta-analysis. *Behav Res Ther* 43:1391–1424.
- Liu J, Calhoun VD, Chen J, Claus ED, Hutchison KE. 2013. Effect of homozygous deletions at 22q13.1 on alcohol dependence severity and cue-elicited BOLD response in the precuneus. *Addict Biol* 18:548–58.
- Loizou LA. 1969. Rostral projections of noradrenaline-containing neurones in the lower brain stem. *J Anat* 104:593.
- Lopez J, Gamache K, Schneider R, Nader K. 2015. Memory retrieval requires ongoing protein synthesis and NMDA receptor activity-mediated AMPA receptor trafficking. *J Neurosci* 35:2465–75.
- Louvar H, Maccari S, Ducrocq F, Thomas P, Darnaudéry M. 2005. Long-term behavioural alterations in female rats after a single intense footshock followed by situational reminders. *Psychoneuroendocrinology* 30:316–324.
- Louvar H, Maccari S, Lesage J, Léonhardt M, Dickes-Coopman A, Darnaudéry M. 2006. Effects of a single footshock followed by situational reminders on HPA axis and behaviour in the aversive context in male and female rats. *Psychoneuroendocrinology* 31:92–99.
- Lowen SB, Rohan ML, Gillis TE, Thompson BS, Wellons CBW, Andersen SL. 2015. Cocaine-conditioned odor cues without chronic exposure: Implications for the development of addiction vulnerability. *NeuroImage Clin* 8:652–659.
- Lu Y, Simpson KL, Weaver KJ, Lin RCS. 2012. Differential distribution patterns from medial prefrontal cortex and dorsal raphe to the locus coeruleus in rats. *Anat Rec (Hoboken)* 295:1192–201.
- Lucki I. 1998. The spectrum of behaviors influenced by serotonin. *Biol Psychiatry* 44:151–162.
- Luo F-F, Han F, Shi Y-X. 2011. Changes in 5-HT<sub>1A</sub> receptor in the dorsal raphe nucleus in a rat model of post-traumatic stress disorder. *Mol Med Rep* 4:843–7.
- Macklin ML, Metzger LJ, Litz BT, McNally RJ, Lasko NB, Orr SP, Pitman RK. 1998. Lower precombat intelligence is a risk factor for posttraumatic stress disorder. *J Consult Clin Psychol* 66:323–326.
- Maier SF, Seligman ME. 1976. Learned helplessness: Theory and evidence. *J Exp Psychol Gen* 105:3–46.
- Marchand A, Boyer R. 2003. La prévention du trouble de stress posttraumatique chez les employés de dépanneurs victimes de vols à main armée.
- Marchand A, Boyer R, Martin M, Nadeau C. 2010. Facteurs prévisionnels du développement de l'état de stress post-traumatique à la suite d'un événement traumatique chez les policiers - Volet rétrospectif.
- Marek GJ, Aghajanian GK. 1999. 5-HT<sub>2A</sub> receptor or alpha<sub>1</sub>-adrenoceptor activation induces excitatory postsynaptic currents in layer V pyramidal cells of the medial prefrontal cortex. *Eur J Pharmacol* 367:197–206.
- Marin M-F, Hupbach A, Maheu FS, Nader K, Lupien SJ. 2011. Metyrapone administration

- reduces the strength of an emotional memory trace in a long-lasting manner. *J Clin Endocrinol Metab* 96:E1221-7.
- Marin M-F, Pilgrim K, Lupien SJ. 2010. Modulatory effects of stress on reactivated emotional memories. *Psychoneuroendocrinology* 35:1388–1396.
- Maron E, Nutt D, Shlik J. 2012. Neuroimaging of serotonin system in anxiety disorders. *Curr Pharm Des* 18:5699–708.
- Mason JW, Giller EL, Kosten TR, Ostroff RB, Podd L. 1986. Urinary free-cortisol levels in posttraumatic stress disorder patients. *J Nerv Ment Dis* 174:145–149.
- Mcfarlane AC, Yehuda R. 1996. Resilience, vulnerability, and the course of posttraumatic reactions. In: Van Der Kolk BA, Mcfarlane AC, Weisaeth L, editors. *Traumatic Stress: The Effects Of Overwhelming Experience On Mind, Body, And Society*. . p 155–181.
- McGaugh J. 2003. *Memory & Emotion: The Making of Lasting Memories*. New York Columbia Univ Press.
- McGaugh JL. 1966. Time-dependent processes in memory storage. *Science* 153:1351–1358.
- McHugh RK, Hearon BA, Otto MW. 2010. Cognitive behavioral therapy for substance use disorders. *Psychiatr Clin North Am* 33:511–525.
- McNally RJ, Hatch JP, Cedillos EM, Luethcke CA, Baker MT, Peterson AL, Litz BT. 2011. Does the repressor coping style predict lower posttraumatic stress symptoms? *Mil Med* 176:752–756.
- Meaney MJ, Brake W, Gratton A. 2002. Environmental regulation of the development of mesolimbic dopamine systems: a neurobiological mechanism for vulnerability to drug abuse? *Psychoneuroendocrinology* 27:127–138.
- Medina a M, Mejia VY, Schell a M, Dawson ME, Margolin G. 2001. Startle reactivity and PTSD symptoms in a community sample of women. *Psychiatry Res* 101:157–169.
- Merlo E, Milton AL, Everitt BJ. 2015. Enhancing Cognition by Affecting Memory Reconsolidation.
- Michopoulos V, Vester A, Neigh G. 2016. Posttraumatic stress disorder: A metabolic disorder in disguise? *Exp Neurol*.
- Mickleborough MJS, Daniels JK, Coupland NJ, Kao R, Williamson PC, Lanius UF, Hegadoren K, Schore A, Densmore M, Stevens T, Lanius RA. 2011. Effects of trauma-related cues on pain processing in posttraumatic stress disorder: an fMRI investigation. *J Psychiatry Neurosci* 36:6–14.
- Milad MR, Rauch SL, Pitman RK, Quirk GJ. 2006. Fear extinction in rats: Implications for human brain imaging and anxiety disorders.
- Miller RR, KasproW WJ, Schachtman TR. 1986. Retrieval variability: sources and consequences. *Am J Psychol* 99:145–218.
- Mongeau R, Blier P, de Montigny C. 1997. The serotonergic and noradrenergic systems of the hippocampus: their interactions and the effects of antidepressant treatments. *Brain Res Brain Res Rev* 23:145–95.
- Do Monte FH, Souza RR, Wong TT, Carobrez ADP. 2013. Systemic or intra-prelimbic cortex infusion of prazosin impairs fear memory reconsolidation. *Behav Brain Res* 244:137–41.
- Morgan CA, Grillon C, Southwick SM, Nagy LM, Davis M, Krystal JH, Charney DS. 1995. Yohimbine facilitated acoustic startle in combat veterans with post-traumatic stress disorder. *Psychopharmacology (Berl)* 117:466–471.
- Muñoz-Abellán C, Armario A, Nadal R. 2010. Do odors from different cats induce equivalent unconditioned and conditioned responses in rats? *Physiol Behav* 99:388–394.
- Muravieva E V, Alberini CM. 2010. Limited efficacy of propranolol on the reconsolidation of fear memories. *Learn Mem* 17:306–13.
- Nader K, Hardt O. 2009. A single standard for memory: the case for reconsolidation. *Nat Rev*

- Neurosci 10:224–234.
- Nader K, Schafe GE, LeDoux JE. 2000. The labile nature of consolidation theory. *Nat Rev Neurosci* 1:216–219.
- Nedelcovych MT, Gould RW, Zhan X, Bubser M, Gong X, Grannan M, Thompson AT, Ivarsson M, Lindsley CW, Conn PJ, Jones CK. 2015. A rodent model of traumatic stress induces lasting sleep and quantitative electroencephalographic disturbances. *ACS Chem Neurosci* 6:485–93.
- Neumann ID, Wegener G, Homberg JR, Cohen H, Slattery DA, Zohar J, Olivier JDA, Mathé AA. 2011. Animal models of depression and anxiety: What do they tell us about human condition? *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 35:1357–1375.
- Newport DJ, Heim C, Bonsall R, Miller AH, Nemeroff CB. 2004. Pituitary-adrenal responses to standard and low-dose dexamethasone suppression tests in adult survivors of child abuse. *Biol Psychiatry* 55:10–20.
- Newport DJ, Nemeroff CB. 2000. Neurobiology of posttraumatic stress disorder. *Curr Opin Neurobiol* 10:211–218.
- Nikulina EM, Covington HE, Ganschow L, Hammer RP, Miczek KA. 2004. Long-term behavioral and neuronal cross-sensitization to amphetamine induced by repeated brief social defeat stress: Fos in the ventral tegmental area and amygdala. *Neuroscience* 123:857–865.
- Nishi D, Hashimoto K, Noguchi H, Hamazaki K, Hamazaki T, Matsuoka Y. 2015. Glutamatergic system abnormalities in posttraumatic stress disorder. *Psychopharmacology (Berl)* 232:4261–8.
- O'Brien CP. 1997. A range of research-based pharmacotherapies for addiction. *Science* 278:66–70.
- Ochsner KN, Gross JJ. 2005. The cognitive control of emotion. *Trends Cogn Sci* 9:242–9.
- Ohman A. 2005. The role of the amygdala in human fear: automatic detection of threat. *Psychoneuroendocrinology* 30:953–958.
- Ohtani T, Ohta ni T, Matsuo K, Kasai K, Kato T, Kato N. 2009. Hemodynamic responses of eye movement desensitization and reprocessing in posttraumatic stress disorder. *Neurosci Res* 65:375–83.
- Olf M, Van Zuiden M, Koch SBJ, Nawijn L, Frijling JL, Veltman DJ. 2015. Intranasal oxytocin: miracle cure after trauma? *Eur J Psychotraumatol* 6.
- Olson VG, Rockett HR, Reh RK, Redila V a, Tran PM, Venkov H a, Defino MC, Hague C, Peskind ER, Szot P, Raskind M a. 2011. The role of norepinephrine in differential response to stress in an animal model of posttraumatic stress disorder. *Biol Psychiatry* 70:441–8.
- Orr SP, Lasko NB, Macklin ML, Pineles SL, Chang Y, Pitman RK. 2012. Predicting post-trauma stress symptoms from pre-trauma psychophysiological reactivity, personality traits and measures of psychopathology. *Biol Mood Anxiety Disord* 2:8.
- Orr SP, Lasko NB, Shalev AY, Pitman RK. 1995. Physiologic responses to loud tones in Vietnam veterans with posttraumatic stress disorder. *J Abnorm Psychol* 104:75–82.
- Osuch EA, Willis MW, Bluhm R, Ursano RJ, Drevets WC. 2008. Neurophysiological responses to traumatic reminders in the acute aftermath of serious motor vehicle collisions using [15O]-H<sub>2</sub>O positron emission tomography. *Biol Psychiatry* 64:327–35.
- Ozer EJ, Best SR, Lipsey TL, Weiss DS. 2003. Predictors of posttraumatic stress disorder and symptoms in adults: A meta-analysis. *Psychol Bull* 129:52–73.
- Papastavrou E, Farmakas A, Karayiannis G, Kotrotsiou E. 2011. Co morbidity of Post-Traumatic-Stress Disorders and Substance Use Disorder. *Heal Sci J* 5.
- Parrott a C. 2007. The psychotherapeutic potential of MDMA (3,4-methylenedioxymethamphetamine): an evidence-based review. *Psychopharmacology*

- (Berl) 191:181–193.
- Parslow RA, Jorm AF. 2007. Pretrauma and posttrauma neurocognitive functioning and PTSD symptoms in a community sample of young adults. *Am J Psychiatry* 164:509–515.
- Parsons LH, Justice JB. 1993. Serotonin and dopamine sensitization in the nucleus accumbens, ventral tegmental area, and dorsal raphe nucleus following repeated cocaine administration. *J Neurochem* 61:1611–1619.
- Parsons RG, Ressler KJ. 2013. Implications of memory modulation for post-traumatic stress and fear disorders. *Nat Neurosci* 16:146–53.
- Paulson PE, Camp DM, Robinson TE. 1991. Time course of transient behavioral depression and persistent behavioral sensitization in relation to regional brain monoamine concentrations during amphetamine withdrawal in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 103:480–492.
- Perkins J. 2015. *The Relationship Between Episodes of Dissociative Amnesia, Symptomology of Post-Traumatic Stress Disorder, and Childhood Sexual Abuse.*
- Perrine SA, Eagle AL, George SA, Mulo K, Kohler RJ, Gerard J, Harutyunyan A, Hool SM, Susick LL, Schneider BL, Ghoddoussi F, Galloway MP, Liberzon I, Conti AC. 2016. Severe, multimodal stress exposure induces PTSD-like characteristics in a mouse model of single prolonged stress. *Behav Brain Res* 303:228–37.
- Phelps E a, LeDoux JE. 2005. Contributions of the amygdala to emotion processing: from animal models to human behavior. *Neuron* 48:175–87.
- Philbert J, Pichat P, Beeské S, Decobert M, Belzung C, Griebel G. 2011. Acute inescapable stress exposure induces long-term sleep disturbances and avoidance behavior: a mouse model of post-traumatic stress disorder (PTSD). *Behav Brain Res* 221:149–154.
- Piazza P V, Deminière JM, Le Moal M, Simon H. 1989. Factors that predict individual vulnerability to amphetamine self-administration. *Science* 245:1511–1513.
- Piazza P V, Marinelli M, Rougé-Pont F, Deroche V, Maccari S, Simon H, Le Moal M. 1996. Stress, glucocorticoids, and mesencephalic dopaminergic neurons: a pathophysiological chain determining vulnerability to psychostimulant abuse. *NIDA Res Monogr* 163:277–299.
- Piazza P V, Le Moal M. 1998. The role of stress in drug self-administration. *Trends Pharmacol Sci* 19:67–74.
- Piazza PV, Deroche-Gamonet V. 2013. A multistep general theory of transition to addiction. *Psychopharmacology (Berl)* 229:387–413.
- Pickel VM, Joh TH, Reis DJ. 1977. A serotonergic innervation of noradrenergic neurons in nucleus locus coeruleus: demonstration by immunocytochemical localization of the transmitter specific enzymes tyrosine and tryptophan hydroxylase. *Brain Res* 131:197–214.
- Pierce RC, Kalivas PW. 1997. A circuitry model of the expression of behavioral sensitization to amphetamine-like psychostimulants. *Brain Res Brain Res Rev* 25:192–216.
- Pietrzak RH, Gallezot J-D, Ding Y-S, Henry S, Potenza MN, Southwick SM, Krystal JH, Carson RE, Neumeister A. 2013. Association of posttraumatic stress disorder with reduced in vivo norepinephrine transporter availability in the locus coeruleus. *JAMA psychiatry* 70:1199–205.
- Pitman RK. 1989. Post-traumatic stress disorder, hormones, and memory. *Biol Psychiatry* 26:221–223.
- Pitman RK, Gilbertson MW, Gurvits T V, May FS, Lasko NB, Metzger LJ, Shenton ME, Yehuda R, Orr SP. 2006. Clarifying the origin of biological abnormalities in PTSD through the study of identical twins discordant for combat exposure. *Ann N Y Acad Sci* 1071:242–254.

- Pitman RK, Milad MR, Igoe S a, Vangel MG, Orr SP, Tsareva A, Gamache K, Nader K. 2011. Systemic mifepristone blocks reconsolidation of cue-conditioned fear; propranolol prevents this effect. *Behav Neurosci* 125:632–8.
- Pitman RK, Rasmusson AM, Koenen KC, Shin LM, Orr SP, Gilbertson MW, Milad MR, Liberzon I. 2012. Biological studies of post-traumatic stress disorder. *Nat Rev Neurosci* 13:769–787.
- Pitman RK, Sanders KM, Zusman RM, Healy AR, Cheema F, Lasko NB, Cahill L, Orr SP. 2002. Pilot study of secondary prevention of posttraumatic stress disorder with propranolol. *Biol Psychiatry* 51:189–192.
- Pole N, Neylan TC, Otte C, Henn-Hasse C, Metzler TJ, Marmar CR. 2009. Prospective prediction of posttraumatic stress disorder symptoms using fear potentiated auditory startle responses. *Biol Psychiatry* 65:235–240.
- Polston JEE, Rubbinaccio HYY, Morra JTT, Sells EM, Glick SDD, Sell EM, Glick SDD. 2011. Music and methamphetamine: conditioned cue-induced increases in locomotor activity and dopamine release in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 98:54–61.
- Popova NK. 2008. From gene to aggressive behavior: the role of brain serotonin. *Neurosci Behav Physiol* 38:471–475.
- Post RM. 1980. Intermittent versus continuous stimulation: effect of time interval on the development of sensitization or tolerance. *Life Sci* 26:1275–1282.
- Post RM, Lockfeld A, Squillace KM, Contel NR. 1981. Drug-environment interaction: context dependency of cocaine-induced behavioral sensitization. *Life Sci* 28:755–60.
- Post RM, Rose H. 1976. Increasing effects of repetitive cocaine administration in the rat. *Nature* 260:731–732.
- Przybylski J, Roullet P, Sara SJ. 1999. Attenuation of emotional and nonemotional memories after their reactivation: role of beta adrenergic receptors. *J Neurosci* 19:6623–6628.
- Pudovkina OL, Cremers TIFH, Westerink BHC. 2003. Regulation of the release of serotonin in the dorsal raphe nucleus by alpha1 and alpha2 adrenoceptors. *Synapse* 50:77–82.
- Pynoos RS, Goenjian A, Tashjian M, Karakashian M, Manjikian R, Manoukian G, Steinberg AM, Fairbanks LA. 1993. Post-traumatic stress reactions in children after the 1988 Armenian earthquake. *Br J Psychiatry* 163:239–47.
- Pynoos RS, Ritzmann RF, Steinberg a M, Goenjian a, Prisecaru I. 1996. A behavioral animal model of posttraumatic stress disorder featuring repeated exposure to situational reminders. *Biol Psychiatry* 39:129–34.
- Rajbhandari AK, Baldo BA, Bakshi VP. 2015. Predator Stress-Induced CRF Release Causes Enduring Sensitization of Basolateral Amygdala Norepinephrine Systems that Promote PTSD-Like Startle Abnormalities. *J Neurosci* 35:14270–85.
- Ramboz S, Oosting R, Amara DA, Kung HF, Blier P, Mendelsohn M, Mann JJ, Brunner D, Hen R. 1998. Serotonin receptor 1A knockout: an animal model of anxiety-related disorder. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95:14476–81.
- Ramos BP, Arnsten AFT. 2007. Adrenergic pharmacology and cognition: focus on the prefrontal cortex. *Pharmacol Ther* 113:523–36.
- Raskind MA, Peskind ER, Kanter ED, Petrie EC, Radant A, Thompson CE, Dobie DJ, Hoff D, Rein RJ, Straits-Tröster K, Thomas RG, McFall MM. 2003. Reduction of nightmares and other PTSD symptoms in combat veterans by prazosin: a placebo-controlled study. *Am J Psychiatry* 160:371–373.
- Rasmusson AM, Hauger RL, Morgan CA, Bremner JD, Charney DS, Southwick SM. 2000. Low baseline and yohimbine-stimulated plasma neuropeptide Y (NPY) levels in combat-related PTSD. *Biol Psychiatry* 47:526–539.

- Rauch SL, Shin LM, Phelps EA. 2006. Neurocircuitry models of posttraumatic stress disorder and extinction: human neuroimaging research—past, present, and future. *Biol Psychiatry* 60:376–382.
- Redouté J, Stoléro S, Pugeat M, Costes N, Lavenne F, Le Bars D, Dechaud H, Cinotti L, Pujol J-F. 2005. Brain processing of visual sexual stimuli in treated and untreated hypogonadal patients. *Psychoneuroendocrinology* 30:461–482.
- Reis DS, Jarome TJ, Helmstetter FJ. 2013. Memory formation for trace fear conditioning requires ubiquitin-proteasome mediated protein degradation in the prefrontal cortex. *Front Behav Neurosci* 7:150.
- Resnick HS, Yehuda R, Pitman RK, Foy DW. 1995. Effect of previous trauma on acute plasma cortisol level following rape. *Am J Psychiatry* 152:1675–1677.
- Reyes BAS, Szot P, Sikkema C, Cathel AM, Kirby LG, Van Bockstaele EJ. 2012. Stress-induced sensitization of cortical adrenergic receptors following a history of cannabinoid exposure. *Exp Neurol* 236:327–35.
- Riaza Bermudo-Soriano C, Perez-Rodriguez MM, Vaquero-Lorenzo C, Baca-Garcia E. 2012. New perspectives in glutamate and anxiety. *Pharmacol Biochem Behav* 100:752–774.
- Ribot T. 1883. The diseases of memory. *Fitzgerald n°46*.
- Riccio DC, Millin PM, Gisquet-Verrier P. 2003. Retrograde amnesia: forgetting back. *Curr Dir Psychol Sci* 12:41–44.
- Rimmele U, Besedovsky L, Lange T, Born J. 2015. Emotional memory can be persistently weakened by suppressing cortisol during retrieval. *Neurobiol Learn Mem* 119:102–7.
- Ritov G, Ardi Z, Richter-Levin G. 2014. Differential activation of amygdala, dorsal and ventral hippocampus following an exposure to a reminder of underwater trauma. *Front Behav Neurosci* 8:18.
- Robertson SD, Plummer NW, de Marchena J, Jensen P. 2013. Developmental origins of central norepinephrine neuron diversity. *Nat Neurosci* 16:1016–23.
- Robinson RC, Mitchell JT. 1993. Evaluation of psychological debriefings. *J Trauma Stress* 6:367–382.
- Robinson TE, Becker JB. 1986. Enduring changes in brain and behavior produced by chronic amphetamine administration: a review and evaluation of animal models of amphetamine psychosis. *Brain Res* 396:157–198.
- Robinson TE, Berridge KC. 1993. The neural basis of drug craving: an incentive-sensitization theory of addiction. *Brain Res Brain Res Rev* 18:247–291.
- Robinson TE, Berridge KC. 2008. Review. The incentive sensitization theory of addiction: some current issues. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 363:3137–3146.
- Robinson TE, Jurson PA, Bennett JA, Bentgen KM. 1988. Persistent sensitization of dopamine neurotransmission in ventral striatum (nucleus accumbens) produced by prior experience with (+)-amphetamine: a microdialysis study in freely moving rats. *Brain Res* 462:211–222.
- Rodrigues SM, LeDoux JE, Sapolsky RM. 2009. The influence of stress hormones on fear circuitry. *Annu Rev Neurosci* 32:289–313.
- Roosendaal B, McEwen BS, Chattarji S. 2009. Stress, memory and the amygdala. *Nat Rev Neurosci* 10:423–33.
- Rosebush P. 1998. Psychological intervention with military personnel in Rwanda. *Mil Med*.
- Rudy JW, Barrientos RM, O'Reilly RC. 2002. Hippocampal formation supports conditioning to memory of a context. *Behav Neurosci* 116:530–8.
- Ruzek J, Watson P. 2001. Early intervention to prevent PTSD and other trauma-related problems. *PTSD Research Quarterly*, 12, 4. - Google Scholar. *PTSD Res Q* 12:1–7.
- Sabban EL, Laukova M, Alaluf LG, Olsson E, Serova LI. 2015. Locus coeruleus response to

- single-prolonged stress and early intervention with intranasal neuropeptide Y. *J Neurochem* 135:975–986.
- Salcioglu E, Basoglu M. 2010. Le traitement de l'état de stress post-traumatique. *Int Encycl Rehabil*.
- Salomon L, Lanteri C, Glowinski J, Tassin J-P. 2006. Behavioral sensitization to amphetamine results from an uncoupling between noradrenergic and serotonergic neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:7476–7481.
- Salomon L, Lanteri C, Godeheu G, Blanc G, Gingrich J, Tassin J-P. 2007. Paradoxical constitutive behavioral sensitization to amphetamine in mice lacking 5-HT<sub>2A</sub> receptors. *Psychopharmacology (Berl)* 194:11–20.
- Samuels ER, Szabadi E. 2008. Functional neuroanatomy of the noradrenergic locus coeruleus: its roles in the regulation of arousal and autonomic function part I: principles of functional organisation. *Curr Neuropharmacol* 6:235–253.
- Sapolsky RM, Uno H, Rebert CS, Finch CE. 1990. Hippocampal damage associated with prolonged glucocorticoid exposure in primates. *J Neurosci* 10:2897–902.
- Sara SJ. 2000. Retrieval and reconsolidation: toward a neurobiology of remembering. *Learn Mem* 7:73–84.
- Sara SJ. 2009. The locus coeruleus and noradrenergic modulation of cognition. *Nat Rev Neurosci* 10:211–223.
- Sara SJ, Devauges V. 1989. Idazoxan, an alpha-2 antagonist, facilitates memory retrieval in the rat. *Behav Neural Biol* 51:401–411.
- Sara SJ, Hars B. 2006. In memory of consolidation. *Learn Mem* 13:515–521.
- Sara SJ, Roullet P, Przybyslawski J. 1999. Consolidation of Memory for Odor-Reward Association: beta -Adrenergic Receptor Involvement in the Late Phase. *Learn Mem* 6:88–96.
- Sara SJ, Segal M. 1991. Plasticity of sensory responses of locus coeruleus neurons in the behaving rat: implications for cognition. *Prog Brain Res* 88:571–585.
- Sautter FJ, Bissette G, Wiley J, Manguno-Mire G, Schoenbachler B, Myers L, Johnson JE, Cerbone A, Malaspina D. 2003. Corticotropin-releasing factor in posttraumatic stress disorder (PTSD) with secondary psychotic symptoms, nonpsychotic PTSD, and healthy control subjects. *Biol Psychiatry* 54:1382–1388.
- Sawamura T, Shimizu K, Nibuya M, Wakizono T, Suzuki G, Tsunoda T, Takahashi Y, Nomura S. 2004. Effect of paroxetine on a model of posttraumatic stress disorder in rats. *Neurosci Lett* 357:37–40.
- Schiller D, Monfils M-H, Raio CM, Johnson DC, Ledoux JE, Phelps EA. 2010. Preventing the return of fear in humans using reconsolidation update mechanisms. *Nature* 463:49–53.
- Schmeltzer SN, Herman JP, Sah R. 2016. Neuropeptide Y (NPY) and posttraumatic stress disorder (PTSD): A translational update. *Exp Neurol*.
- Scholl JL, Feng N, Watt MJ, Renner KJ, Forster GL. 2009. Individual differences in amphetamine sensitization, behavior and central monoamines. *Physiol Behav* 96:493–504.
- See RE. 2002. Neural substrates of conditioned-cued relapse to drug-seeking behavior. *Pharmacol Biochem Behav* 71:517–529.
- Segman RH, Cooper-Kazaz R, Macciardi F, Goltser T, Halfon Y, Dobroborski T, Shalev AY. 2002. Association between the dopamine transporter gene and posttraumatic stress disorder. *Mol Psychiatry* 7:903–907.
- Seidler GH, Wagner FE. 2006. Comparing the efficacy of EMDR and trauma-focused cognitive-behavioral therapy in the treatment of PTSD: a meta-analytic study. *Psychol Med* 36:1515–1522.



- Selye H. 1973. The evolution of the stress concept. *Am Sci* 61:692–9.
- Serova LI, Tillinger a, Alaluf LG, Laukova M, Keegan K, Sabban EL. 2013. Single intranasal neuropeptide Y infusion attenuates development of PTSD-like symptoms to traumatic stress in rats. *Neuroscience* 236:298–312.
- Servatius RJ, Ottenweller JE, Natelson BH. 1995. Delayed Startle Sensitization Distinguishes Rats Exposed to One or Three Stress Sessions Further Evidence Toward an Animal Model of PTSD. *Biol Psychiatry* 38:539–546.
- Shaham Y, Shalev U, Lu L, De Wit H, Stewart J. 2003. The reinstatement model of drug relapse: history, methodology and major findings. *Psychopharmacology (Berl)* 168:3–20.
- Shalev AY, Sahar T, Freedman S, Peri T, Glick N, Brandes D, Orr SP, Pitman RK. 1998. A prospective study of heart rate response following trauma and the subsequent development of posttraumatic stress disorder. *Arch Gen Psychiatry* 55:553–559.
- Shamay-Tsoory SG, Abu-Akel A. 2016. The Social Salience Hypothesis of Oxytocin. *Biol Psychiatry* 79:194–202.
- Shapiro F. 1989. Eye movement desensitization: a new treatment for post-traumatic stress disorder. *J Behav Ther Exp Psychiatry* 20:211–7.
- Sharkansky EJ, Brief DJ, Peirce JM, Meehan JC, Mannix LM. 1999. Substance abuse patients with posttraumatic stress disorder (PTSD): Identifying specific triggers of substance use and their associations with PTSD symptoms. *Psychol Addict Behav* 13:89–97.
- Sharpless BA, Barber JP. 2012. A Clinician’s Guide to PTSD Treatments for Returning Veterans. *Prof psychol Res* 42:8–15.
- Shepard JD, Bossert JM, Liu SY, Shaham Y. 2004. The anxiogenic drug yohimbine reinstates methamphetamine seeking in a rat model of drug relapse. *Biol Psychiatry* 55:1082–9.
- Shepherd J, Stein K, Milne R. 2000. Eye movement desensitization and reprocessing in the treatment of post-traumatic stress disorder: a review of an emerging therapy. *Psychol Med* 30:863–871.
- Shin LM, Orr SP, Carson MA, Rauch SL, Macklin ML, Lasko NB, Peters PM, Metzger LJ, Dougherty DD, Cannistraro PA, Alpert NM, Fischman AJ, Pitman RK. 2004. Regional cerebral blood flow in the amygdala and medial prefrontal cortex during traumatic imagery in male and female Vietnam veterans with PTSD. *Arch Gen Psychiatry* 61:168–176.
- Shin LM, Wright CI, Cannistraro PA, Wedig MM, McMullin K, Martis B, Macklin ML, Lasko NB, Cavanagh SR, Krangel TS, Orr SP, Pitman RK, Whalen PJ, Rauch SL. 2005. A functional magnetic resonance imaging study of amygdala and medial prefrontal cortex responses to overtly presented fearful faces in posttraumatic stress disorder. *Arch Gen Psychiatry* 62:273–281.
- Shoaib M, Benwell ME, Akbar MT, Stolerman IP, Balfour DJ. 1994. Behavioural and neurochemical adaptations to nicotine in rats: influence of NMDA antagonists. *Br J Pharmacol* 111:1073–1080.
- Sinha R. 2008. Chronic stress, drug use, and vulnerability to addiction. *Ann N Y Acad Sci* 1141:105–130.
- Smaga D. 2008. La place de l’hypnose dans le traitement des syndromes psychotraumatiques. *SCHWEIZER Arch FÜR Neurol UND Psychiatr*.
- Soeter M, Kindt M. 2012. Stimulation of the noradrenergic system during memory formation impairs extinction learning but not the disruption of reconsolidation. *Neuropsychopharmacology* 37:1204–1215.
- Solomon RL, Corbit JD. 1974. An opponent-process theory of motivation. I. Temporal dynamics of affect. *Psychol Rev* 81:119–45.

- Southwick SM, Bremner JD, Rasmusson a, Morgan C a, Arnsten a, Charney DS. 1999. Role of norepinephrine in the pathophysiology and treatment of posttraumatic stress disorder. *Biol Psychiatry* 46:1192–1204.
- Southwick SM, Krystal JH, Bremner JD, Morgan CA, Nicolaou AL, Nagy LM, Johnson DR, Heninger GR, Charney DS. 1997. Noradrenergic and serotonergic function in posttraumatic stress disorder. *Arch Gen Psychiatry* 54:749–758.
- Southwick SM, Krystal JH, Morgan CA, Johnson D, Nagy LM, Nicolaou A, Heninger GR, Charney DS. 1993. Abnormal noradrenergic function in posttraumatic stress disorder. *Arch Gen Psychiatry* 50:266–274.
- Spear NE. 1978. *The processing of memories: Forgetting and retention.* (Erlbaum L, editor.). Oxford, England.
- Squire LR, Stark CEL, Clark RE. 2004. The medial temporal lobe. *Annu Rev Neurosci* 27:279–306.
- Staples LG. 2010. Predator odor avoidance as a rodent model of anxiety: learning-mediated consequences beyond the initial exposure. *Neurobiol Learn Mem* 94:435–445.
- Stark CEL, Okado Y, Loftus EF. 2010. Imaging the reconstruction of true and false memories using sensory reactivation and the misinformation paradigms. *Learn Mem* 17:485–8.
- Stein DJ, Ipser J, McAnda N. 2009. Pharmacotherapy of posttraumatic stress disorder: a review of meta-analyses and treatment guidelines. *CNS Spectr* 14:25–31.
- Stein DJ, Ipser JC, Seedat S. 2006. Pharmacotherapy for post traumatic stress disorder (PTSD). *Cochrane database Syst Rev*:CD002795.
- Stein MB, Jang KL, Taylor S, Vernon PA, Livesley WJ. 2002. Genetic and environmental influences on trauma exposure and posttraumatic stress disorder symptoms: a twin study. *Am J Psychiatry* 159:1675–1681.
- Steketee JD, Kalivas PW. 2011. Drug wanting: behavioral sensitization and relapse to drug-seeking behavior. *Pharmacol Rev* 63:348–365.
- Stewart SH, Conrod PJ, Barton Samoluk S, Pihl RO, Dongier M. 2000. Posttraumatic Stress Disorder Symptoms and Situation-Specific Drinking in Women Substance Abusers. *Alcohol Treat Q* 18.
- Stewart SH, Pihl RO, Conrod PJ, Dongier M. 1998. Functional associations among trauma, PTSD, and substance-related disorders. *Addict Behav* 23:797–812.
- Stickgold R. 2002. EMDR: a putative neurobiological mechanism of action. *J Clin Psychol* 58:61–75.
- Sullivan GM, Ogden RT, Huang Y-Y, Oquendo MA, Mann JJ, Parsey R V. 2013. Higher in vivo serotonin-1a binding in posttraumatic stress disorder: a PET study with [11C]WAY-100635. *Depress Anxiety* 30:197–206.
- Sulser F. 1987. Serotonin-norepinephrine receptor interactions in the brain: implications for the pharmacology and pathophysiology of affective disorders. *J Clin Psychiatry* 48 Suppl:12–8.
- Svensson TH, Bunney BS, Aghajanian GK. 1975. Inhibition of both noradrenergic and serotonergic neurons in brain by the alpha-adrenergic agonist clonidine. *Brain Res* 92:291–306.
- Szabo ST, Blier P. 2001a. Functional and pharmacological characterization of the modulatory role of serotonin on the firing activity of locus coeruleus norepinephrine neurons. *Brain Res* 922:9–20.
- Szabo ST, Blier P. 2001b. Serotonin (1A) receptor ligands act on norepinephrine neuron firing through excitatory amino acid and GABA(A) receptors: a microiontophoretic study in the rat locus coeruleus. *Synapse* 42:203–212.
- Takahashi T, Morinobu S, Iwamoto Y, Yamawaki S. 2006. Effect of paroxetine on enhanced

- contextual fear induced by single prolonged stress in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 189:165–173.
- Takei S, Morinobu S, Yamamoto S, Fuchikami M, Matsumoto T, Yamawaki S. 2011. Enhanced hippocampal BDNF/TrkB signaling in response to fear conditioning in an animal model of posttraumatic stress disorder. *J Psychiatr Res* 45:460–468.
- Tanaka T, Yokoo H, Mizoguchi K, Yoshida M, Tsuda A, Tanaka M. 1991. Noradrenaline release in the rat amygdala is increased by stress: studies with intracerebral microdialysis.
- Tarrier N, Sommerfield C, Pilgrim H, Humphreys L. 1999. Cognitive therapy or imaginal exposure in the treatment of post-traumatic stress disorder. Twelve-month follow-up. *Br J Psychiatry* 175:571–575.
- Tassin J-P. 2008. Uncoupling between noradrenergic and serotonergic neurons as a molecular basis of stable changes in behavior induced by repeated drugs of abuse. *Biochem Pharmacol* 75:85–97.
- Taubenfeld SM, Riceberg JS, New AS, Alberini CM. 2009. Preclinical assessment for selectively disrupting a traumatic memory via postretrieval inhibition of glucocorticoid receptors. *Biol Psychiatry* 65:249–57.
- Taylor FB, Lowe K, Thompson C, McFall MM, Peskind ER, Kanter ED, Allison N, Williams J, Martin P, Raskind MA. 2006. Daytime Prazosin Reduces Psychological Distress to Trauma Specific Cues in Civilian Trauma Posttraumatic Stress Disorder. *Biol Psychiatry* 59:577–581.
- Taylor S, Thordarson DS, Maxfield L, Fedoroff IC, Lovell K, Ogradniczuk J. 2003. Comparative efficacy, speed, and adverse effects of three PTSD treatments: exposure therapy, EMDR, and relaxation training. *J Consult Clin Psychol* 71:330–338.
- Thierry AM, Tassin JP, Blanc G, Glowinski J. 1976. Selective activation of mesocortical DA system by stress. *Nature* 263:242–4.
- Toledano D, Gisquet-Verrier P. 2014. Only susceptible rats exposed to a model of PTSD exhibit reactivity to trauma-related cues and other symptoms: An effect abolished by a single amphetamine injection. *Behav Brain Res* 272:165–174.
- Toledano D, Gisquet-Verrier P. 2016. Repeated amphetamine injections alter behavior and induce a delayed behavioral sensitization modulated by reactivity to novelty: Similarities and differences with trauma consequences. *Eur Neuropsychopharmacol* 26:456–466.
- Toledano D, Tassin J-P, Gisquet-Verrier P. 2013. Traumatic stress in rats induces noradrenergic-dependent long-term behavioral sensitization: role of individual differences and similarities with dependence on drugs of abuse. *Psychopharmacology (Berl)* 230:465–476.
- Tollenaar MS, Elzinga BM, Spinhoven P, Everaerd W. 2009. Immediate and prolonged effects of cortisol, but not propranolol, on memory retrieval in healthy young men. *Neurobiol Learn Mem* 91:23–31.
- Tronson NC, Taylor JR. 2007. Molecular mechanisms of memory reconsolidation. *Nat Rev Neurosci* 8:262–75.
- Trovero F, David S, Bernard P, Puech A, Bizot J-C, Tassin J-P. 2016. The Combination of Marketed Antagonists of  $\alpha$ 1b-Adrenergic and 5-HT<sub>2A</sub> Receptors Inhibits Behavioral Sensitization and Preference to Alcohol in Mice: A Promising Approach for the Treatment of Alcohol Dependence. *PLoS One* 11:e0151242.
- True WR, Rice J, Eisen SA, Heath AC, Goldberg J, Lyons MJ, Nowak J. 1993. A twin study of genetic and environmental contributions to liability for posttraumatic stress symptoms. *Arch Gen Psychiatry* 50:257–264.
- Tulogdi A, Sörös P, Tóth M, Nagy R, Biró L, Aliczki M, Klausz B, Mikics E, Haller J. 2012.

- Temporal changes in c-Fos activation patterns induced by conditioned fear. *Brain Res Bull* 88:359–70.
- Univ. Douglas et McGill. 2010. TRAUMA. Available from: <http://www.info-trauma.org/fr/victime/psychotherapies>
- Unnerstall JR, Fernandez I, Orensanz LM. 1985. The alpha-adrenergic receptor: radiohistochemical analysis of functional characteristics and biochemical differences. *Pharmacol Biochem Behav* 22:859–874.
- Uys JDK, Marais L, Faure J, Prevoo D, Swart P, Mohammed AH, Stein DJ, Daniels WMU. 2006. Developmental trauma is associated with behavioral hyperarousal, altered HPA axis activity, and decreased hippocampal neurotrophin expression in the adult rat. *Ann N Y Acad Sci* 1071:542–546.
- Vaiva G, Ducrocq F, Jezequel K, Averland B, Lestavel P, Brunet A, Marmar CR. 2003. Immediate treatment with propranolol decreases posttraumatic stress disorder two months after trauma. *Biol Psychiatry* 54:947–949.
- Vanderheyden WM, George SA, Urpa L, Kehoe M, Liberzon I, Poe GR. 2015. Sleep alterations following exposure to stress predict fear-associated memory impairments in a rodent model of PTSD. *Exp Brain Res* 233:2335–46.
- Vanderschuren LJ, Tjon GH, Nestby P, Mulder AH, Schoffelmeer AN, De Vries TJ. 1997. Morphine-induced long-term sensitization to the locomotor effects of morphine and amphetamine depends on the temporal pattern of the pretreatment regimen. *Psychopharmacology (Berl)* 131:115–122.
- VanElzaker MB, Dahlgren MK, Davis FC, Dubois S, Shin LM. 2014. From Pavlov to PTSD: the extinction of conditioned fear in rodents, humans, and anxiety disorders. *Neurobiol Learn Mem* 113:3–18.
- Ventura R, Alcaro A, Puglisi-Allegra S. 2005. Prefrontal cortical norepinephrine release is critical for morphine-induced reward, reinstatement and dopamine release in the nucleus accumbens. *Cereb Cortex* 15:1877–86.
- Ventura R, Cabib S, Alcaro A, Orsini C, Puglisi-Allegra S. 2003. Norepinephrine in the prefrontal cortex is critical for amphetamine-induced reward and mesoaccumbens dopamine release. *J Neurosci* 23:1879–1885.
- Vermetten E, Bremner JD. 2002. Circuits and systems in stress. II. Applications to neurobiology and treatment in posttraumatic stress disorder. *Depress Anxiety* 16:14–38.
- Vermetten E, Bremner JD. 2003. Olfaction as a traumatic reminder in posttraumatic stress disorder: case reports and review. *J Clin Psychiatry* 64:202–7.
- Vermetten E, Schmahl C, Southwick SM, Bremner JD. 2007. Positron tomographic emission study of olfactory induced emotional recall in veterans with and without combat-related posttraumatic stress disorder. *Psychopharmacol Bull* 40:8–30.
- Vezina P. 1996. D1 dopamine receptor activation is necessary for the induction of sensitization by amphetamine in the ventral tegmental area. *J Neurosci* 16:2411–2420.
- Vezina P, Giovino AA, Wise RA, Stewart J. 1989. Environment-specific cross-sensitization between the locomotor activating effects of morphine and amphetamine. *Pharmacol Biochem Behav* 32:581–584.
- Vezina P, Leyton M. 2009. Conditioned cues and the expression of stimulant sensitization in animals and humans. *Neuropharmacology* 56 Suppl 1:160–168.
- Viviani D, Haegler P, Strasser DS, Steiner MA. 2012. Sex comparison on long-lasting behavioral and physiological disturbances induced by single shock experience in rats. *Physiol Behav* 107:243–251.
- Voisey J, Swagell CD, Hughes IP, Morris CP, van Daal A, Noble EP, Kann B, Heslop KA, Young

- RM, Lawford BR. 2009. The DRD2 gene 957C>T polymorphism is associated with posttraumatic stress disorder in war veterans. *Depress Anxiety* 26:28–33.
- Volkow ND. 2001. Drug abuse and mental illness: progress in understanding comorbidity. *Am J Psychiatry* 158:1181–1183.
- Wakizono T, Sawamura T, Shimizu K, Nibuya M, Suzuki G, Toda H, Hirano J, Kikuchi A, Takahashi Y, Nomura S. 2007. Stress vulnerabilities in an animal model of post-traumatic stress disorder. *Physiol Behav* 90:687–695.
- Wand GS, Oswald LM, McCaul ME, Wong DF, Johnson E, Zhou Y, Kuwabara H, Kumar A. 2007. Association of amphetamine-induced striatal dopamine release and cortisol responses to psychological stress. *Neuropsychopharmacology* 32:2310–2320.
- Wang W, Liu Y, Zheng H, Wang HN, Jin X, Chen YC, Zheng LN, Luo XX, Tan QR. 2008. A modified single-prolonged stress model for post-traumatic stress disorder. *Neurosci Lett* 441:237–241.
- Warrington EK, Weiskrantz L. 1968. New method of testing long-term retention with special reference to amnesic patients. *Nature* 217:972–974.
- Weber M, Killgore W, Rosso I, Britton J. 2013. Voxel-based morphometric gray matter correlates of posttraumatic stress disorder. *J anxiety*.
- Weems CF, Pina AA, Costa NM, Watts SE, Taylor LK, Cannon MF. 2007. Predisaster trait anxiety and negative affect predict posttraumatic stress in youths after hurricane Katrina. *J Consult Clin Psychol* 75:154–159.
- Weinshenker D, Schroeder JP. 2007. There and back again: a tale of norepinephrine and drug addiction. *Neuropsychopharmacology* 32:1433–1451.
- Wells BG, Chu CC, Johnson R, Nasdahl C, Ayubi MA, Sewell E, Statham P. 1991. Buspirone in the treatment of posttraumatic stress disorder. *Pharmacotherapy* 11:340–3.
- Whitaker AM, Gilpin NW, Edwards S. 2014. Animal models of post-traumatic stress disorder and recent neurobiological insights. *Behav Pharmacol* 25:398–409.
- Whitney D. 2002. Le syndrome de stress post-traumatique document de travail.
- Wingenfeld K, Whooley MA, Neylan TC, Otte C, Cohen BE. 2015. Effect of current and lifetime posttraumatic stress disorder on 24-h urinary catecholamines and cortisol: Results from the Mind Your Heart Study. *Psychoneuroendocrinology* 52:83–91.
- Winter H, Irle E. 2004. Hippocampal volume in adult burn patients with and without posttraumatic stress disorder. *Am J Psychiatry* 161:2194–200.
- Wise RA, Bozarth MA. 1987. A psychomotor stimulant theory of addiction. *Psychol Rev* 94:469–492.
- Wood NE, Rosasco ML, Suris AM, Spring JD, Marin M-F, Lasko NB, Goetz JM, Fischer AM, Orr SP, Pitman RK. 2015. Pharmacological blockade of memory reconsolidation in posttraumatic stress disorder: three negative psychophysiological studies. *Psychiatry Res* 225:31–9.
- Xian H, Chantarujikapong SI, Scherrer JF, Eisen SA, Lyons MJ, Goldberg J, Tsuang M, True WR. 2000. Genetic and environmental influences on posttraumatic stress disorder, alcohol and drug dependence in twin pairs. *Drug Alcohol Depend* 61:95–102.
- Xie P, Kranzler HR, Poling J, Stein MB, Anton RF, Farrer LA, Gelernter J. 2010. Interaction of FKBP5 with childhood adversity on risk for post-traumatic stress disorder. *Neuropsychopharmacology* 35:1684–1692.
- Yamamoto S, Morinobu S, Iwamoto Y, Ueda Y, Takei S, Fujita Y, Yamawaki S. 2010. Alterations in the hippocampal glycinergic system in an animal model of posttraumatic stress disorder. *J Psychiatr Res* 44:1069–1074.
- Yehuda R. 2009. Status of glucocorticoid alterations in post-traumatic stress disorder. *Ann N Y Acad Sci* 1179:56–69.

- Yehuda R, Bierer LM, Sarapas C, Makotkine I, Andrew R, Seckl JR. 2009. Cortisol metabolic predictors of response to psychotherapy for symptoms of PTSD in survivors of the World Trade Center attacks on September 11, 2001. *Psychoneuroendocrinology* 34:1304–1313.
- Yehuda R, Brand S, Yang R-K. 2006. Plasma neuropeptide Y concentrations in combat exposed veterans: relationship to trauma exposure, recovery from PTSD, and coping. *Biol Psychiatry* 59:660–663.
- Yehuda R, Hoge CW, McFarlane AC, Vermetten E, Lanius RA, Nievergelt CM, Hobfoll SE, Koenen KC, Neylan TC, Hyman SE. 2015. Post-traumatic stress disorder. *Nat Rev Dis Prim*:15057.
- Yehuda R, McFarlane a C, Shalev a Y. 1998. Predicting the development of posttraumatic stress disorder from the acute response to a traumatic event. *Biol Psychiatry* 44:1305–1313.
- Yehuda R, Southwick S, Giller EL, Ma X, Mason JW. 1992. Urinary catecholamine excretion and severity of PTSD symptoms in Vietnam combat veterans. *J Nerv Ment Dis* 180:321–325.
- Yehuda R, Southwick SM, Nussbaum G, Wahby V, Giller EL, Mason JW. 1990. Low urinary cortisol excretion in patients with posttraumatic stress disorder. *J Nerv Ment Dis* 178:366–369.
- Yehuda R, Teicher MH, Trestman RL, Levengood RA, Siever LJ. 1996. Cortisol regulation in posttraumatic stress disorder and major depression: a chronobiological analysis. *Biol Psychiatry* 40:79–88.
- Yoshii T, Sakamoto H, Kawasaki M, Ozawa H, Ueta Y, Onaka T, Fukui K, Kawata M. 2008. The single-prolonged stress paradigm alters both the morphology and stress response of magnocellular vasopressin neurons. *Neuroscience* 156:466–474.
- Young EA, Breslau N. 2004. Cortisol and catecholamines in posttraumatic stress disorder: an epidemiologic community study. *Arch Gen Psychiatry* 61:394–401.
- Zaniewska M, Filip M, Przegalinski E. 2015. The Involvement of Norepinephrine in Behaviors Related to Psychostimulant Addiction. *Curr Neuropharmacol* 13:407–18.
- Zer-Aviv TM, Akirav I. 2016. Sex differences in hippocampal response to endocannabinoids after exposure to severe stress. *Hippocampus* 26:947–57.
- zhang L-M, Yao J-Z, Li Y, Li K, Chen H-X, Zhang Y-Z, Li Y-F. 2012. Anxiolytic effects of flavonoids in animal models of posttraumatic stress disorder. *Evidence-Based Complement Altern Med*.
- Zhao L-Y, Zhang X-L, Shi J, Epstein DH, Lu L. 2009. Psychosocial stress after reactivation of drug-related memory impairs later recall in abstinent heroin addicts. *Psychopharmacology (Berl)* 203:599–608.
- Zheng H, Rinaman L. 2013. Yohimbine anxiogenesis in the elevated plus maze requires hindbrain noradrenergic neurons that target the anterior ventrolateral bed nucleus of the stria terminalis. *Eur J Neurosci* 37:1340–9.
- Zoladz PR, Fleshner M, Diamond DM. 2013. Differential effectiveness of tianeptine, clonidine and amitriptyline in blocking traumatic memory expression, anxiety and hypertension in an animal model of PTSD. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 44:1–16.
- van Zuiden M, Geuze E, Willemsen HJDM, Vermetten E, Maas M, Amarouchi K, Kavelaars A, Heijnen CJ. 2012. Glucocorticoid receptor pathway components predict posttraumatic stress disorder symptom development: a prospective study. *Biol Psychiatry* 71:309–316.

## **Le trouble de stress post traumatique, une pathologie de la réactivation mnésique ? Recherche d'un découplage monoaminergique et de nouvelles tentatives thérapeutiques chez le rat.**

Le Trouble de Stress Post-Traumatique (TSPT) est une pathologie qui se développe chez des sujets exposés à des événements traumatiques. Cette pathologie est caractérisée par des reviviscences du traumatisme induisant des troubles anxieux invalidants et durables. Ces reviviscences, provoquées par des indices de rappel, sont à l'origine des fréquentes rechutes qui caractérisent le TSPT. La dépendance aux drogues d'abus est également caractérisée par une hyperréactivité aux indices de rappel qui est responsable du désir irrésistible de drogue ou « craving » et des nombreuses rechutes après abstinence. Nous avons fait l'hypothèse que cette susceptibilité aux indices environnementaux, commune aux deux pathologies, pourrait être due à un découplage des systèmes monoaminergiques induit par l'exposition à des conditions intenses, drogues d'abus ou traumatisme. Les données de cette thèse montrent que notre modèle animal de traumatisme (le Single Prolonged Stress) reproduit chez les individus vulnérables les symptômes de la pathologie, et une réactivité aux indices de rappel. Nos données indiquent également qu'un traumatisme induit, chez les individus vulnérables, une désensibilisation comportementale et une sensibilisation noradrénergique corticale, supportant l'hypothèse de découplage monoaminergique. Enfin, nous avons développé une nouvelle approche thérapeutique, le « remodelage émotionnel » capable de diminuer durablement les symptômes de type TSPT. Les résultats obtenus dans cette thèse, soutiennent l'hypothèse de bases physiologiques communes entre le TSPT et l'addiction, et proposent de nouvelles approches thérapeutiques pour ces deux pathologies.

**Mots clés :** [Trouble de stress post traumatique (TSPT) ; Addiction ; Découplage monoaminergique ; Sensibilisation noradrénergique ; Remodelage émotionnel ; modèle animal]

---

## **Post-traumatic stress disorder, a pathology of memory reactivation? In search for monoaminergic uncoupling and new therapeutic approaches on rats.**

Post-Traumatic Stress disorder (PTSD) appears on a part of individuals exposed to traumatic events. This pathology is characterized by frequent re-experiencing of the traumatic event inducing disabling and long-lasting anxiety disorders. These flashbacks, triggered by reminder cues, are responsible for the frequent relapses that characterize PTSD. Addiction to drugs of abuse is also characterized by a hyper reactivity to reminder cues which is responsible for drug craving and relapses. We hypothesized that such a susceptibility to environmental cues, common to both pathologies, could be due to an uncoupling of monoaminergic systems induced by exposure to intense conditions (trauma or drugs). Data from this thesis showed that our animal model of PTSD (the Single Prolonged Stress) reproduced PTSD-like symptoms on vulnerable rats, and reactivity to reminder cues. Our data also showed that trauma induced a behavioral desensitization and a cortical noradrenergic sensitization, in vulnerable traumatized rats, supporting the hypothesis of monoaminergic uncoupling. Finally, we developed a new therapeutic approach, the "emotional remodeling" which was shown to durably decrease PTSD-like symptoms. The results obtained in this thesis support the hypothesis of common physiological basis between PTSD and drug addiction, and offer new therapeutic approaches for these two pathologies.

**Key words:** [Post-traumatic stress disorder (PTSD); Addiction; monoaminergic uncoupling; noradrenergic sensitization; emotional remodeling; animal model]