



HAL
open science

Cortex préfrontal et flexibilité comportementale : implication de la noradrénaline

Juan Carlos Cerpa Gilvonio

► **To cite this version:**

Juan Carlos Cerpa Gilvonio. Cortex préfrontal et flexibilité comportementale : implication de la noradrénaline. Médecine humaine et pathologie. Université de Bordeaux, 2019. Français. NNT : 2019BORD0367 . tel-02491448

HAL Id: tel-02491448

<https://theses.hal.science/tel-02491448>

Submitted on 26 Feb 2020

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.

THÈSE PRÉSENTÉE
POUR OBTENIR LE GRADE DE
DOCTEUR DE
L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

ÉCOLE DOCTORALE DES SCIENCES DE LA VIE ET DE LA SANTE
SPÉCIALITÉ NEUROSCIENCES

Par

Juan Carlos CERPA GILVONIO

*CORTEX PRÉFRONTAL
ET FLEXIBILITÉ COMPORTEMENTALE :
IMPLICATION DE LA NORADRÉNALINE*

Sous la direction de : Etienne COUTUREAU (DR, CNRS)

Soutenue le 16 décembre 2019

Membres du jury :

GUILLOU, Jean-Louis, PR, CNRS UMR 5287, Univ. Bordeaux
BOURET, Sébastien, CR, CNRS UMR 7225, ICM Paris
EL MASSIOUI, Nicole, CR, CNRS UMR 9197, Univ. Paris-Sud
GRANON, Sylvie, PR, CNRS UMR 9197, Univ. Paris-Sud
GUILLEM, Karine, CR, CNRS UMR 5293, Univ. Bordeaux
COUTUREAU, Etienne, DR, CNRS UMR 5287, Univ. Bordeaux

Président
Rapporteur
Rapporteur
Examinateur
Examinateur
Directeur de thèse

Avant-propos

Ce travail de thèse a été financé par la Fondation pour la Recherche Médicale dans le cadre du programme « Espoirs de la recherche 2016 ». Cette thèse s'est inscrite dans le prolongement du travail initié lors de mon stage de Master 2. L'ensemble de ce travail a fait l'objet de deux publications acceptées, d'une publication soumise et d'une publication en préparation ainsi que de communications affichées et orales.

Publications

Cerpa JC, Marchand A.R*, Coutureau E* - Distinct Regional Patterns in Noradrenergic Innervation of the Rat Prefrontal Cortex, *Journal of Chemical Neuroanatomy* (2019),
<https://doi.org/10.1016/j.jchemneu.2019.01.002>

Parkes S.L, Ravassard P.M, **Cerpa JC**, Wolff M, Ferreira G, Coutureau E - Insular and Ventrolateral Orbitofrontal Cortices Differentially Contribute to Goal-Directed Behavior in Rodents. *Cerebral Cortex* 2017 1-13. doi: 10.1093/cercor/bhx132

Cerpa JC, Marchand A.R, Salafranque Y, Pape J-R, Kremer E.J, Coutureau E - Targeting catecholaminergic systems in transgenic rats with a CAV-2 vector harbouring a Cre-dependent DREADD cassette (soumis)

Cerpa JC, Parkes S.L, Dehove M, Faugère A, Wolff A, Marchand A.R, Coutureau E - Noradrenergic control of action-outcome identity reversal in the orbitofrontal cortex (en préparation)

Autres

de Medeiros G.F, Lafenêtre P, Janthakhin Y, **Cerpa JC**, Zhang C, Mehta M, Mortessagne P, Helbling JC, Ferreira G, Moisan MP - Corticosteroid-Binding Globulin deficiency specifically impairs contextual and recognition memory consolidation in male mice. *Neuroendocrinology* 2019,
<https://doi.org/10.1159/000499827>

Communications orales

Symposium

Cerpa JC. Noradrenergic modulation of orbitofrontal cortex mediates flexibility of goal-directed behaviour. Symposium France-Australie, Sydney, Australie, 14 novembre 2018.

Cerpa JC. The role of the orbitofrontal cortex in goal-directed behaviour. Symposium du Groupement de Recherche NeuroMem, Bordeaux, France, 16 mai 2017.

Séminaires

Cerpa JC. Noradrenergic modulation of orbitofrontal cortex mediates behavioural flexibility. Séminaire du laboratoire INCIA (Bordeaux, France, 29 avril, 2019)

Cerpa JC. Orbitofrontal cortex & goal-directed behaviour: role of the noradrenergic system. Journée scientifique de l'INCIA (Bordeaux, France, 15 septembre 2017)

Communications affichées

Congrès internationaux

Cerpa JC, Parkes S.L, Dehove M, Faugère A, Wolff A, Marchand A.R, Coutureau E - Noradrenergic modulation of the orbitofrontal cortex mediates behavioral flexibility in rats. 4^{ème} congrès quadriennal sur l'OFC, Paris, France, 13-15 novembre 2019

Cerpa JC, Marchand A.R, Wolff M, Parkes S.L*, Coutureau E* – Noradrenergic modulation of orbitofrontal cortex mediates flexibility of goal-directed behaviour. 48^{ème} congrès annuel de la Society for Neurosciences, San Diego, US, 3-7 novembre 2018

Cerpa JC, Marchand A.R, Wolff M, Parkes S.L*, Coutureau E* – The role of the orbitofrontal cortex / noradrenaline tandem in behavioural flexibility. 47^{ème} congrès de l'European Brain and Behaviour Society, Bilbao, Espagne, 8-11 septembre 2017

Congrès nationaux

Cerpa JC, Marchand A.R, Wolff M, Parkes S.L*, Coutureau E* – Noradrenergic modulation of the orbitofrontal cortex mediates flexibility of goal-directed behaviour. 15^{ème} congrès de la Société des Neurosciences, Marseille, France, 22-24 mai 2019

Cerpa JC, Ravassard P.M, Wolff M, Ferreira G, Coutureau E, Parkes S.L – The role of the orbitofrontal cortex in goal-directed action. 14^{ème} congrès de la Société des Neurosciences (Bordeaux, France, 17-19 mai 2017)

Cerpa JC, Ravassard P.M, Wolff M, Ferreira G, Coutureau E, Parkes S.L – The role of the orbitofrontal cortex in goal-directed action. 7th International Symposium of biology of decision-making (Bordeaux, France, 14-16 mai 2017)

Congrès locaux

Cerpa JC, Marchand A.R, Wolff M, Parkes S.L*, Coutureau E* – Noradrenergic modulation of the orbitofrontal cortex mediates flexibility of goal-directed behaviour. 18^{ème} Journée Scientifique de l'Ecole Doctorale des Sciences de la Vie et de la Santé, Bordeaux, France, 18 avril 2018

*À la mémoire de mon père,
À la mémoire de mes oncles,
Que ce travail puisse vous rendre fiers, là-haut.*

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier tous les membres de mon jury de thèse. Merci au président du jury, le Pr. Jean-Louis Guillou. Merci aux rapporteurs, les Drs. Sébastien Bouret et Nicole El Massioui. Merci aux examinateurs, le Pr. Sylvie Granon et le Dr. Karine Guillem. Merci à tous pour votre intérêt manifeste pour ce travail, pour la discussion très enrichissante qui a suivi ma présentation et pour la reconnaissance du travail effectué. Je regrette que les membres de Paris n'aient pas pu être présents physiquement, j'espère que nous nous croiserons un jour.

Mes remerciements principaux vont à Etienne Coutureau, mon directeur de thèse. Tout d'abord, navré d'avoir continué à vous vouvoyer toutes ces années... Ensuite, bien qu'il soit impossible d'écrire des remerciements à la mesure de tout ce que vous m'avez apporté, je vous dis merci de m'avoir tant appris (scientifiquement bien sûr mais pas que...) et soutenu. Depuis le premier pré-rapport avant même le début du stage de M2, jusqu'à l'écriture du manuscrit et la soutenance, en passant par le concours de l'école doctorale, et j'en oublie, vous avez toujours été d'une aide très précieuse et m'avez toujours fait pleinement confiance alors que souvent je n'y croyais pas moi-même. J'ai fortement apprécié de me sentir comme l'un de vos collègues lorsque l'on discutait de choses ne concernant pas forcément un thésard, à propos de l'équipe ou du labo par exemple. Merci aussi pour les coups de mains lorsque j'en ai eu besoin pour les manips. Je crois qu'il est difficile d'imaginer meilleur encadrement pour une thèse. Je n'emporte avec moi que des bons souvenirs. A bientôt.

Merci à celle que je considère comme mon autre « mentor », Shauna Parkes. Cette fois, je fais les remerciements en français car tu maîtrises désormais parfaitement la langue. Bien sûr, du point de vue scientifique tu m'as énormément appris, tu es si brillante... (si tu savais à quel point tu nous impressionnes, nous étudiants...) Merci pour toutes les suggestions, les conseils, les corrections. Mais encore plus important, merci pour ta gentillesse incroyable, je suis heureux d'avoir partagé toutes ces années avec toi. J'ai énormément apprécié nos discussions à propos de tout et n'importe quoi. Pour moi, ton bureau a toujours été comme une « safety zone », là où il fallait aller pour se sentir bien. Les « Hi Juan ! » avec un grand sourire à chaque fois que j'y rentrais vont énormément me manquer. TU vas me manquer mais nous nous reverrons, n'est-ce pas ?

Merci à Alain Marchand pour les explications et l'aide apportée durant toutes ces années. Je suis notamment conscient de votre énorme contribution au travail d'anatomie présenté dans cette thèse. Merci aussi d'avoir accepté de relire mon manuscrit. Merci également à Mathieu Wolff pour avoir

toujours gardé un œil attentif à mon travail et avoir toujours su le faire avancer dans la bonne direction. Merci à vous deux d'avoir toujours bien voulu écouter les nombreuses répétitions que j'ai pu faire au cours de ces dernières années (désolé pour le ton monotone), et ce même jusqu'en Australie... D'ailleurs, je garderai toujours de bons souvenirs de ce voyage en petit comité.

Je tiens également à remercier Jean-Rémi Pape. Malgré votre emploi du temps surchargé, vous avez toujours trouvé un moment pour m'aider. J'ai beaucoup aimé nos quelques moments partagés en salle d'immuno.

Merci à Salma Tannous, ma coloc de bureau durant nos 3 ans de thèse. Malgré le stress de cette dernière année je garde de beaux souvenirs de nos discussions tard la nuit quand on était plus que deux au labo, on finissait avec un « bon on n'a pas du tout avancé finalement... » mais ça nous faisait du bien. Je vous souhaite une belle vie avec ton compagnon.

Merci à mes aînés, toujours aussi d'jeuns dans leur tête. Merci à Yoan Baudelaire Salafranque, le gardien du temple. Toujours présent lorsque j'avais besoin d'aide et ce, toujours avec la blague qui tue bien sûr. Rien ne serait possible sans ton travail. Merci à Angélique Faugère, mamie gâteau et mamie sucette, toujours là pour me prêter main forte. Mon conseil aux futurs doctorants serait de rentrer dans le bureau et dire « Tu es ravissante aujourd'hui Angélique, j'aurais besoin de... ». Tes arrêts à mon bureau lorsque tu parlais avant moi vont me manquer. Merci à Florence Darlot, ex-bouboule, bien que je n'ai pas directement travaillé avec toi, tu vagabondais toujours par-ci par-là prête à partager ton savoir et ta sagesse... Ou étaient-ce de bonnes grosses blagues bien sales ? J'ai un doute. Merci à vous deux de m'avoir décrit avec précision les conséquences de la maternité. Merci à cette petite bande de quarant...trentenaires du midi, sans oublier Virginie Fresno(uille) ! Vous allez me manquer.

Merci aux chercheurs de l'Addicteam, Stéphanie Caillé-Garnier et Martine Cadot pour les moments partagés le midi. Merci à Catherine Le Moine d'avoir assisté à certaines reprises à mes répétitions et pour les encouragements lors de la dernière ligne droite.

Merci à Margot Dehove, future thésarde (?), sans qui cette 3^{ème} année aurait été bien pire. Merci d'avoir amené ta bonne humeur (même quand je te gâchais des week-ends...), j'en avais bien besoin ! J'ai également une pensée pour Robin Piquet et Sarah Morceau, nouveaux doctorants de l'équipe. Vous êtes tombés dans une formidable équipe avec de supers encadrants, tout ira bien. Merci Sarah pour les excellents gâteaux que tu as préparé pour m'encourager. Je regrette que l'on ait fini notre thèse avec Salma au moment où vous débutez la vôtre mais je suis sûr que l'on se recroisera. Bon courage !

Le travail c'est bien mais au cours de ces 3 années, j'ai surtout appris à apprécier encore davantage les moments passés à l'extérieur du labo. Merci à mes amis, sans vous en rendre compte vous avez toujours été un bol d'air frais pour moi. J'aurais aimé pouvoir profiter encore plus souvent de nos délires (les

mêmes qu'à l'époque du collège, c'est dire s'ils sont très cons...), malheureusement ça n'a pas toujours été possible.

Merci à ma famille pour leur amour et soutien infaillibles. Merci à ma mère, merci à mon frère qui me montre le chemin depuis tant d'années. Je remercie particulièrement ma tante sans qui je n'en serais pas là et à qui je dois absolument tout. Là encore, je regrette de ne pas avoir pu vous retrouver plus souvent, notamment les petit(e)s, la belle nouvelle génération de la famille.

Enfin, merci à Lea de m'avoir accompagné pendant ces 3 années de thèse, malgré la distance parfois. Sans toi, ces années auraient été bien plus pesantes. J'espère que nous pourrons passer plus de temps ensemble à l'avenir.

Résumé

La survie d'un organisme nécessite qu'il soit capable de prendre des décisions adaptées dans un environnement changeant. Ces décisions dépendent de multiples processus cognitifs qui ont pu être étudiés par l'intermédiaire des apprentissages associatifs. Ainsi, le contrôle de l'action repose sur des processus distribués au sein de larges circuits cérébraux impliquant notamment les régions préfrontales. Ces fonctions du cortex préfrontal sont largement influencées par l'action de neuromodulateurs, parmi lesquels la noradrénaline, qui pourrait jouer un rôle essentiel dans la flexibilité comportementale. Mon travail de thèse a donc cherché à déterminer l'implication de l'innervation noradrénergique du cortex préfrontal dans l'adaptation à des changements des conséquences de l'action. Une première partie a consisté à étudier l'organisation de l'innervation noradrénergique au sein de différentes aires préfrontales par des méthodes de quantification automatisée. Dans une deuxième partie, nous avons utilisé un protocole instrumental nécessitant un apprentissage flexible des relations causales entre actions et conséquences. A l'aide de ce protocole et de toxines induisant une déplétion noradrénergique, nous avons démontré l'implication de la noradrénaline au sein d'une région du cortex préfrontal, le cortex orbitofrontal, pour la flexibilité comportementale nécessaire au contrôle de l'action, en particulier pour prendre en compte des changements dans l'identité et la valeur des récompenses associées à cette action. Une comparaison avec le cortex préfrontal médian d'une part, et avec le rôle de l'innervation dopaminergique d'autre part, suggère que le rôle de la noradrénaline est spécifique de la région et de l'espèce neurochimique. Dans une troisième partie, nous avons développé plusieurs approches pharmacogénétiques visant à préciser les phases de l'apprentissage impliquant la modulation noradrénergique, et observé certaines limites de ces approches. Ces travaux confirment l'importance de l'action neuromodulatrice sur les fonctions préfrontales et surtout étendent nos connaissances des circuits cérébraux impliqués dans le contrôle de l'action permettant l'adaptation à un environnement changeant.

Mots clés : Cortex préfrontal ; Cortex orbitofrontal ; Noradrénaline ; Locus Coeruleus ; Action ; Adaptation ; Apprentissage instrumental ; Rat

Abstract

An organism depends for its survival on the ability to take adaptive decisions in an ever-changing environment. These decisions involve several cognitive processes that can be revealed by the study of associative learning processes. Thus, action control has been found to rely on processes that distribute across a network of cerebral structures including prefrontal regions. Prefrontal functions are largely influenced by neuromodulators such as noradrenaline, which is thought to be involved in behavioural flexibility. My Ph.D. project therefore aimed at clarifying the role of noradrenergic modulation of prefrontal cortex regions in adapting a subject's behaviour to changes in action consequences. In the first chapter, we studied the organization of noradrenergic innervation in the various prefrontal areas, by means of an automated quantification method. In the second chapter, we applied a behavioural protocol requiring flexible learning of the causal relationships between actions and their outcomes. Using this protocol and neurotoxins to deplete prefrontal regions from noradrenergic innervation, we showed that noradrenaline in a specific area, the orbitofrontal cortex, was necessary to action control, in particular to mediate changes in the identity and value of expected outcomes. Comparing this contribution to the role of medial prefrontal cortex on one hand, and of dopaminergic modulation on the other hand, suggests that the role of noradrenergic neuromodulation is both region- and mediator-specific. In the third chapter, we developed a series of chemogenetic approaches to identify the temporal involvement of noradrenaline in the various phases of the task, and we identified some of the limits of these approaches. This work confirms the importance of neuromodulation in prefrontal cortical function and furthers our understanding of cerebral circuits involved in action control and adaptation to a changing environment.

Keywords : Prefrontal cortex ; Orbitofrontal cortex ; Noradrenaline ; Locus Cœruleus ; Action ; Adaptation ; Instrumental learning ; Rat

Sommaire

Avant-propos	2
Remerciements	6
Résumé	9
Abstract	10
Sommaire	11
Introduction	12
I) Comportements adaptatifs	13
1) Cycle de la décision	13
2) Actions-habitudes	13
II) Circuits neuronaux des actions dirigées et habitudes	34
1) Circuits de l'action dirigée (A-O)	34
2) Circuits des habitudes	51
3) Circuit de la flexibilité de l'action dirigée	53
III) Noradrénaline	57
1) Généralités	57
2) Fonctions neuronales	65
3) Fonctions comportementales & cognitives	70
IV) Objectifs de la thèse	86
Chapitre 1 : Organisation anatomique des afférences noradrénergiques du cortex préfrontal	89
1) Introduction	89
2) Conclusion	111
Chapitre 2: Contrôle noradrénergique de l'action dirigée vers un but	113
Chapitre 3 : Rôle de la NA préfrontale dans le contrôle temporel de la flexibilité instrumentale	143
1) Stratégie 1	143
2) Stratégie 2	145
3) Stratégies 3 et 4	159
Conclusion générale	167
Discussion générale	169
Références bibliographiques	178

Introduction générale

1) Comportements adaptatifs

1) Cycle de la décision

L'adaptation à son environnement est essentielle à la survie de tout organisme. Dans sa conception actuelle, l'émergence de comportements adaptés résulte de l'intégration d'un ensemble de processus cognitifs de haut niveau, tels que schématisés dans la Figure 1 (Rangel et al 2008).

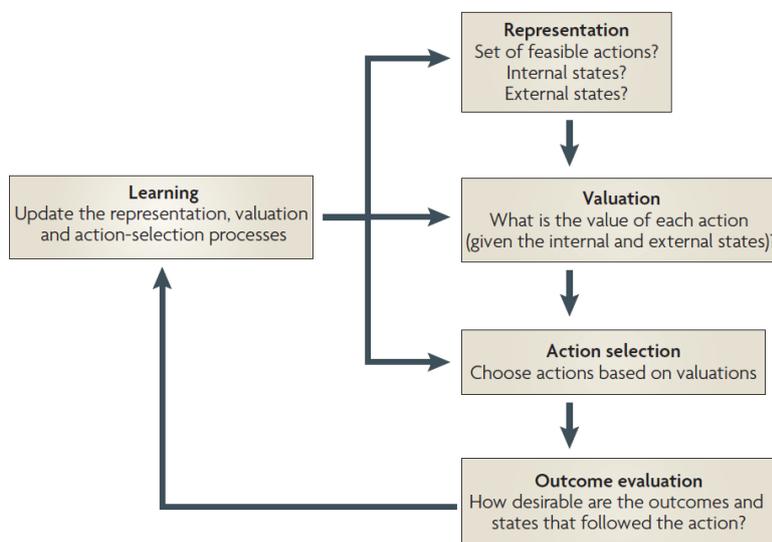


Figure 1. Cycle de la décision. Le cycle comporte une succession de processus cognitifs élémentaires permettant de prendre une décision adaptée. Tirée de Rangel et al (2008)

La première étape consiste à se **représenter** les différentes options à disposition au sein de son environnement tout en identifiant ses besoins et désirs (état interne) et l'état externe (p. ex. le niveau de danger). Ensuite vient une étape d'**évaluation** au cours de laquelle, en fonction de facteurs internes (p. ex. état de satiété) et externes (p. ex. effort requis), l'individu va attribuer une valeur spécifique aux options. En se basant sur ces valeurs et en les comparant, une option va être **sélectionnée** entraînant ainsi une action. Les conséquences résultant de l'action choisie sont **évaluées** selon l'état interne et externe de l'individu, ce qui permet un ajustement ultérieur pour optimiser les choix du futur.

2) Actions-habitudes

Les processus de contrôle de l'action, à la base du choix, ont été largement étudiés dans le cadre du corpus théorique et méthodologique des apprentissages associatifs et plus particulièrement du

conditionnement instrumental (de Wit & Dickinson 2009). Au contraire du conditionnement Pavlovien reposant sur des processus de prédiction (Pavlov 1927), le conditionnement instrumental met en jeu des processus de contrôle de l'occurrence des événements dans l'environnement (Balleine & Dickinson 1998b, de Wit & Dickinson 2009).

2.1 Les associations stimulus-réponse (S-R)

Le conditionnement instrumental fut initialement observé par Edward L. Thorndike au début du XXe siècle. Une expérience célèbre de Thorndike (1911) consistait à placer un chat dans une "boîte à problème" de laquelle il pouvait sortir et accéder à de la nourriture en actionnant un mécanisme simple. Il observa que lors de la première mise en situation, l'animal finissait par actionner le mécanisme par hasard. Lors des sessions ultérieures, l'animal actionnait le mécanisme toujours plus rapidement. Ainsi, la latence de résolution du problème diminuait au fil des sessions, ce qui suggérait l'apprentissage d'un comportement. Selon Thorndike, cette amélioration de la performance était le résultat d'un apprentissage par essais et erreurs permettant une sélection accrue de l'action adéquate tandis que les autres étaient délaissées. Ces observations ont servi à la formulation de la « Loi de l'Effet » selon laquelle une action précédant un état de satisfaction, tel que l'obtention de nourriture pour l'animal, deviendrait fortement associée aux stimuli présents lorsque cette action a été réalisée. Ainsi, lorsque l'animal rencontre ultérieurement ces mêmes stimuli, ceux-ci provoquent la même réponse comportementale. En d'autres termes, Thorndike pense alors que la récompense (nourriture) obtenue après l'exécution d'une réponse (R) sert uniquement à promouvoir l'association entre les stimuli (p. ex. contexte de la boîte à problèmes; S) et la réponse. Le comportement de l'animal serait donc médié par une association S-R, dans laquelle la récompense n'est pas encodée.

Par la suite, les travaux de Thorndike ont été notamment repris par Skinner, qui fut le premier à définir la notion de conditionnement opérant et à le dissocier du conditionnement Pavlovien (Skinner 1938). Ainsi, reprenant la Loi de l'Effet, Skinner introduit la notion de renforcement, c'est-à-dire un événement qui augmente la probabilité de répéter l'action qui le précède. Un renforcement peut être positif (p. ex. obtention de nourriture) ou négatif (p. ex. arrêt de chocs électriques). Ainsi, dans une situation particulière, un sujet va déclencher sa réponse à partir d'une association S-R qui a été auparavant renforcée par des conséquences positives.

Par ailleurs, Hull (1943) élabora un modèle intégrant les **processus motivationnels** à la base des réponses comportementales. Ce modèle est basé sur l'idée que les réponses sont motivées par les besoins de l'animal, par exemple la faim ou la soif. Ces besoins vont induire une motivation ("**drive**") pour rétablir l'équilibre homéostatique. Une fois le besoin assouvi et l'homéostasie rétablie, le *drive* disparaît. Il est

intéressant de noter que pour Hull, les sources de *drive* ne sont pas seulement innées (p. ex. la faim) mais peuvent être acquises par conditionnement. C'est le cas de stimuli environnementaux qui peuvent acquérir la capacité d'induire un *drive*. Ainsi, un comportement réduisant ce *drive* deviendrait fortement associé à ces stimuli.

2.2 L'action dirigée vers un but (A-O) comme nouvelle conception

L'ensemble de ces conceptions n'intègre pas dans les processus associatifs la représentation du renforcement, que nous appellerons par la suite O (*outcome*). En effet, ce dernier n'intervient que pour accroître la force associative entre S et R. Ainsi, selon ces premières théories, le contrôle de l'action serait sous le contrôle de stimuli et non de la représentation du but de l'action. Il ne serait donc pas affecté par des changements de valeur de la récompense. Cette conception, bien que pouvant rendre compte d'un système de contrôle « habituel », ne constitue pas un modèle pertinent pour l'étude du contrôle intentionnel de l'action. Ainsi, c'est en se basant sur les théories de l'action chez l'Humain, qu'une nouvelle conception du contrôle instrumental a vu le jour. Selon une telle conception, la réponse comportementale est dirigée vers un but si elle répond à deux caractéristiques principales : i) la croyance (*belief*) en un lien causal entre une action et sa conséquence, ii) le désir pour la conséquence attendue de l'action entreprise. Cette analyse a été fondamentale car elle s'est traduite par plusieurs méthodes pour étudier le contenu cognitif du contrôle instrumental.



Figure 2. Le Pr. Anthony Dickinson (Université de Cambridge)

Ainsi, les tâches de dévaluation instrumentale et de dégradation de contingence sont apparues comme des éléments méthodologiques essentiels pour mettre en évidence les deux caractéristiques de la réponse dirigée vers un but dans sa dimension phylogénétique (Balleine & Dickinson 1994, Balleine & Dickinson 1998b) et ontogénétique (Naneix et al 2012).

a) Dévaluation

Dans une étude pionnière menée par Adams & Dickinson (1981), des rats étaient entraînés à associer l'appui sur un levier à l'obtention d'une récompense alimentaire (Figure 3A). Suite à cet entraînement, la consommation de la récompense était appariée à une injection intrapéritonéale de chlorure de lithium (LiCl) provoquant un malaise gastrique et donc une dévaluation de la récompense. Un autre groupe contrôle recevait une injection sans conséquence de chlorure de sodium (NaCl). Enfin, lors d'un test au cours duquel les animaux avaient accès au levier, sans qu'aucune récompense ne soit délivrée, ceux-ci diminuaient significativement leur taux d'appuis sur le levier par rapport au groupe contrôle non-dévalué (Figure 3B).

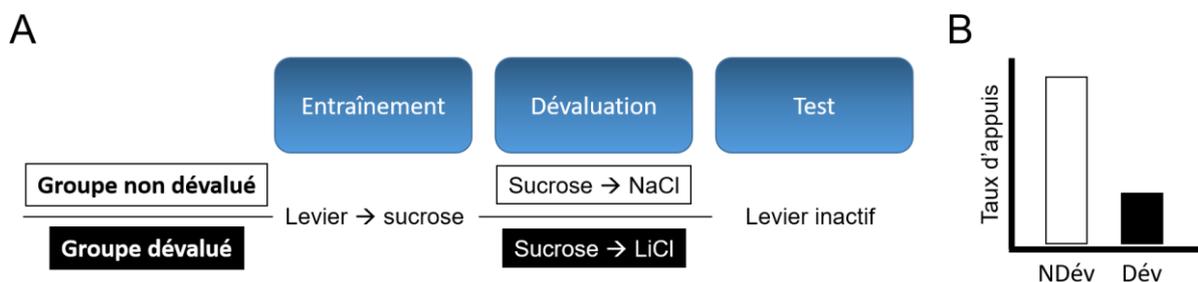


Figure 3. A. Procédure de dévaluation instrumentale réalisée par Adams & Dickinson (1981). Deux groupes de rats sont entraînés à associer l'appui sur un levier à l'obtention d'une récompense alimentaire, dans ce cas une solution sucrée. Lors de la dévaluation, la récompense est consommée librement avant une injection de NaCl pour le groupe non dévalué (contrôle) ou une injection de LiCl pour le groupe dévalué. Ce dernier induit un malaise gastrique et une dévaluation de la récompense précédemment consommée. Enfin lors d'un test au cours duquel le levier est inactif, les animaux ont la possibilité d'appuyer sur le levier en se basant uniquement sur leur représentation de la récompense associée. B. Résultats typiquement obtenus lors du test. La dévaluation de la récompense entraîne une baisse du taux d'appuis sur le levier.

Adams & Dickinson (1981) ont ainsi démontré que l'expression de la réponse était médiée par une représentation de la valeur de la conséquence, attestant ainsi de son caractère dirigé.

Par la suite, Colwill & Rescorla (1985b) étendront ces résultats à une procédure dans laquelle l'animal se retrouve en situation de choix. Dans ces travaux (Figure 4A), l'animal apprenait à réaliser deux actions différentes, chacune permettant l'obtention d'une récompense alimentaire spécifique. Comme précédemment, l'une de ces deux récompenses était dévaluée par induction d'un malaise gastrique.

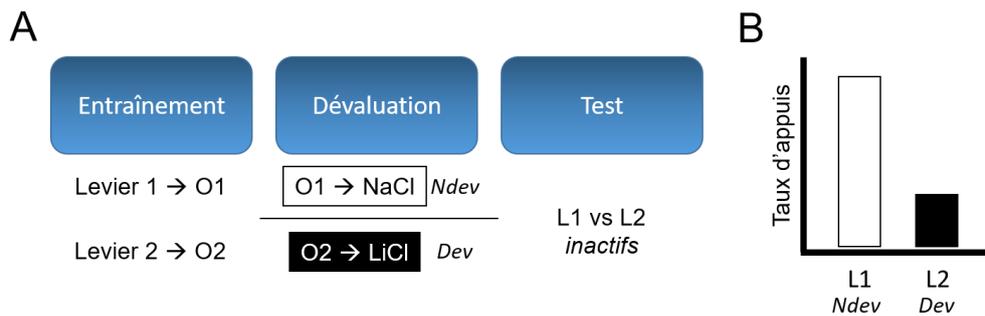


Figure 4. **A.** Procédure de dévaluation instrumentale à deux associations réalisée par Colwill & Rescorla (1985b). Les rats sont entraînés à associer l'appui sur deux leviers (L1 et L2) à l'obtention de deux récompenses alimentaires différentes (O1 et O2). Lors de l'étape de dévaluation, O1 est consommée librement avant une injection de NaCl (non dévaluée) et la consommation de O2 est suivie d'une injection de LiCl (dévaluée). Enfin lors d'un test au cours duquel les leviers sont inactifs, les animaux ont le choix entre les deux leviers. **B.** Résultats typiquement obtenus lors du test. Les animaux diminuent spécifiquement leur taux d'appuis sur le levier associé à la récompense préalablement dévaluée.

Finalement, lors du test, l'animal avait le choix entre les deux actions. Colwill & Rescorla (1985b) ont observé que les animaux diminuaient sélectivement l'action associée à la récompense dévaluée tout en continuant de réaliser l'action associée à la récompense non-dévaluée (Figure 4B). Ces résultats seront aussi reproduits en utilisant une procédure de dévaluation par satiété, qui induit une réduction transitoire des propriétés hédoniques de la récompense (Berridge 1991).

b) Dégradation de Contingence

En 1980, Hammond (1980) a montré que les animaux sont sensibles à la relation de contingence entre les actions et leurs conséquences, démontrant ainsi que leur réponse dépendait de la perception du lien causal entre action et conséquence. Dans cette étude, l'appui sur un levier était récompensé avec une certaine probabilité ($P_{\text{récompense/levier}}$). A l'inverse, la probabilité de recevoir une récompense sans appuyer était nulle ($P_{\text{récompense}/\emptyset}$). Lorsque $P_{\text{récompense}/\emptyset}$ était augmentée par la distribution de récompenses « gratuites » jusqu'à valoir $P_{\text{récompense/levier}}$, les animaux diminuaient significativement leur taux d'appui sur le levier. Ce résultat indique qu'ils étaient capables de détecter la relation de contingence entre le levier et la récompense. De plus, Colwill & Rescorla (1986) ont entraîné des rats à appuyer sur deux leviers pour obtenir deux récompenses différentes (Figure 5A). Lorsque l'une des deux récompenses était fournie de manière non-contingente, les animaux diminuaient spécifiquement leur taux d'appuis sur le levier associé à cette récompense. La réponse sur le levier associé à l'autre récompense était, elle, inchangée (Figure 5B). Dickinson and Mulatero (1989) ont démontré le même effet en utilisant des conditions plus contrôlées, permettant d'exclure des interprétations alternatives comme des compétitions de réponse entre appui sur le levier et visite à la mangeoire. L'impact de la

dégradation de la récompense s'observe durant la phase de dégradation elle-même mais également durant un test en extinction (Figure 5B). Ce dernier démontre que les animaux diminuent spécifiquement leurs réponses sur le levier de la condition dégradée en se basant uniquement sur leur représentation de la contingence.

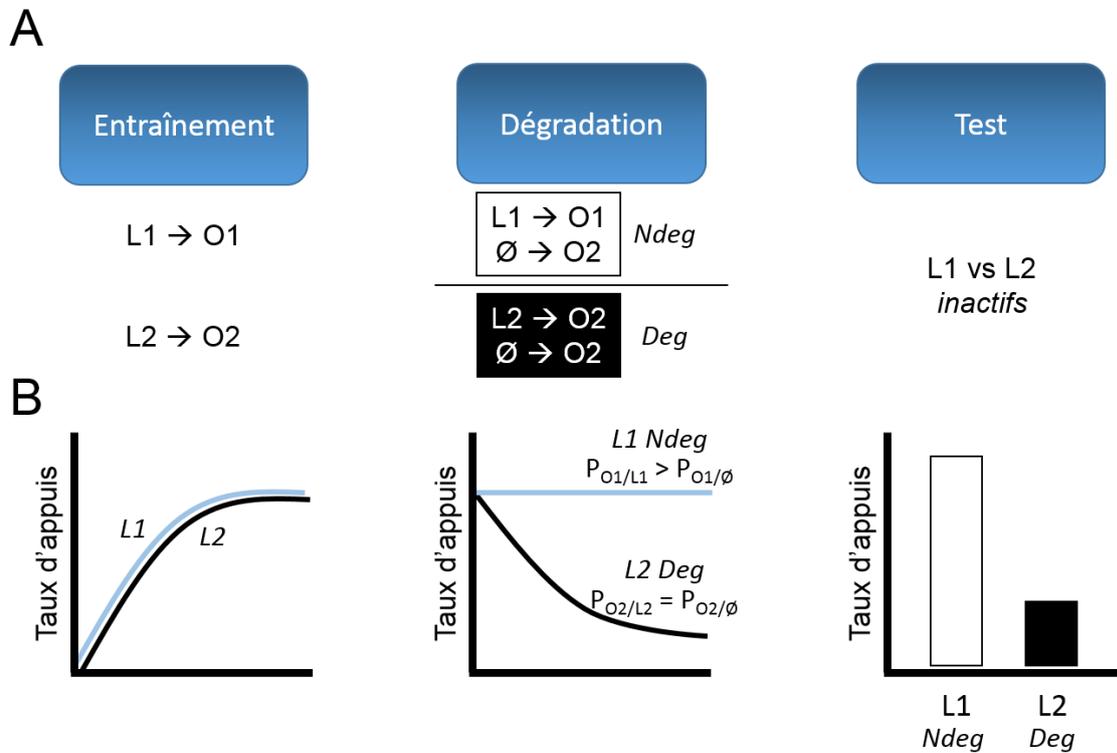


Figure 5. A. Procédure de dégradation instrumentale. Les rats sont entraînés à associer l'appui sur deux leviers (L1 et L2) à l'obtention de deux récompenses alimentaires différentes (O1 et O2). Lors de l'étape de dégradation, l'une des deux récompenses est fournie de manière non-contingente à l'appui sur le levier. Soit cette récompense est différente de la récompense contingente au levier (levier non dégradé, Ndeg), soit cette récompense est identique (dégradée, Deg). Enfin lors d'un test au cours duquel les leviers sont inactifs, les animaux ont le choix entre les deux leviers. B. Résultats typiquement obtenus lors du test. Les animaux diminuent spécifiquement leur taux d'appuis sur le levier associé à la récompense préalablement dégradée.

Ces données attestent que les réponses instrumentales répondent aux deux critères de la théorie de l'action. Au-delà de ces deux critères, il est important de noter que la réponse instrumentale dépend de nombreux autres processus dans les différentes phases de l'apprentissage (Figure 6).



Figure 6. Les trois étapes typiques dans les études de la réponse dirigée vers un but. L'étape d'encodage correspond au conditionnement lors duquel l'animal apprend à associer l'activation d'un *manipulandum* à l'obtention d'une récompense. Lors de l'étape d'évaluation, une altération de la valeur de la récompense ou du lien causal action-conséquence est réalisée, poussant l'animal à réévaluer l'action disponible. Suite à cela, lors d'un test en extinction (*manipulandum* inactif), l'animal va exprimer une réponse basée sur l'intégration des précédentes étapes.

c) Phases

i) Encodage

L'étape de conditionnement a lieu dans une boîte instrumentale dans laquelle un (des) levier(s) est (sont) disponible(s). C'est à cette étape que l'animal forme une association A-O et plusieurs éléments, décrits ci-dessous, vont déterminer cette acquisition instrumentale.

- Contiguïté

Dickinson et al (1992) ont étudié l'acquisition d'une réponse instrumentale en appliquant un délai entre l'appui sur levier et l'obtention de la récompense et démontré que le niveau de performance diminue l'augmentation du délai. De même, Coutureau et al (2012) ont soumis des animaux à des délais croissant entre appuis et récompenses. Les résultats montrent une corrélation négative entre l'augmentation du délai et la performance des animaux, ceux-ci n'appuyant plus que très faiblement pour des délais supérieurs à 2 secondes. Lorsque le délai était de nouveau diminué, la performance des animaux augmentait de nouveau.

Ces données indiquent que la contiguïté entre l'action et sa conséquence est un facteur important de l'encodage. Une interprétation possible est qu'une forte contiguïté aide l'animal à détecter la relation de **contingence** entre l'action et la récompense et ainsi former une forte association A-O.

- Programme de renforcement

Au-delà de la contiguïté et la contingence, il est apparu que le programme de renforcement constitue un facteur déterminant de la forme de l'apprentissage. Deux types de programmes sont utilisés, les programmes basés sur le ratio (de réponse) et ceux basés sur l'intervalle (de temps). Le programme basé sur le ratio définit la probabilité avec laquelle un appui sur levier sera récompensé. Le programme basé sur l'intervalle définit un laps de temps, suivant un appui récompensé, après lequel un appui pourra de nouveau être récompensé. Ces deux programmes conduisent à un patron de réponses différent mais surtout à une expérience différente pour l'animal (Figure 7). En effet, dans un programme en ratio, le taux de récompenses obtenues est fortement dépendant du taux de réponses de l'animal. Ce dernier peut donc percevoir une forte corrélation entre ses actions et les récompenses. En revanche, dans un programme en intervalle, la performance instrumentale progressant, très rapidement le taux de récompenses obtenues devient relativement indépendant du taux de réponses de l'animal. Celui-ci ne peut alors percevoir qu'une faible corrélation entre ces deux éléments et ne forme donc qu'une faible association A-O.

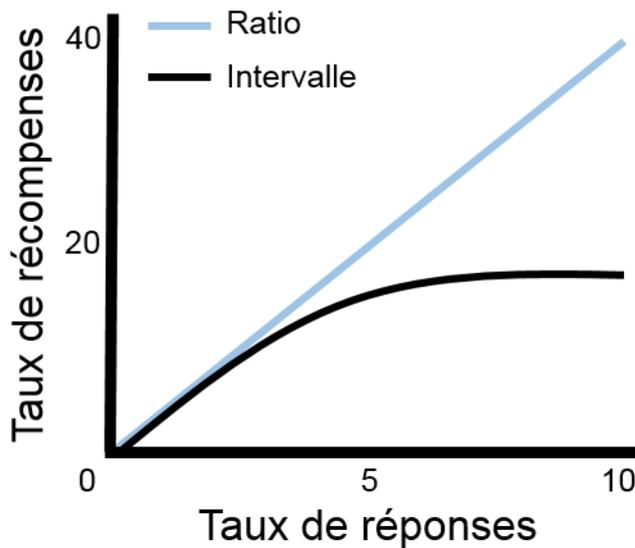


Figure 7. Les programmes en Ratio offrent une relation linéaire entre le taux de réponses de l'animal et le taux de récompenses obtenues. Dans un programme en Intervalle, très rapidement, le taux de récompenses obtenues n'évolue plus avec le taux de réponses. Ce type de programme favoriserait l'expression de réponses habituelles. Adaptée de Yin & Knowlton (2006).

Par conséquent, ce type de programme en intervalle conduirait à la mise en place plus rapide de réponses habituelles par la formation d'association S-R (Dickinson 1985). Il a été proposé que ce soit l'incertitude générée par ce type de programme en intervalle qui influence fortement le contrôle comportemental (Derusso et al 2010). Par ailleurs, une étude a révélé que ces programmes et leur causalité sous-jacente étaient également différemment détectés dans le cerveau humain (Tanaka et al 2008).

- Contexte

Le contexte influence également la réponse instrumentale, comme l'a étudié de manière systématique ces dernières années le groupe de Mark Bouton (voir Bouton 2019 pour une recension récente). Ces données ont permis de démontrer que le contexte pouvait moduler le contrôle instrumental par i) son association directe (inhibitrice ou excitatrice) avec la réponse (Figure 8A)(Trask & Bouton 2014) ii), son association directe avec la conséquence (O) de la réponse (Figure 8B)(Trask & Bouton 2014), iii) sa relation hiérarchique avec l'association A-O (Figure 8C)(Rescorla 1991).

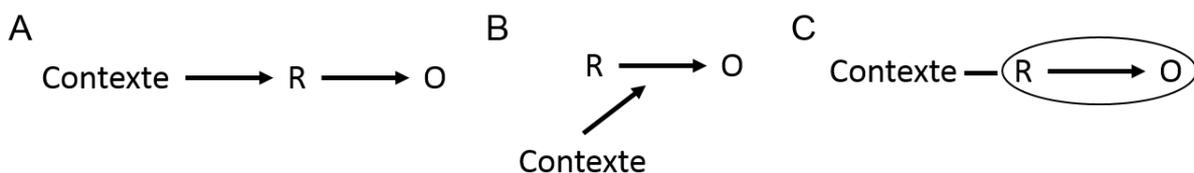


Figure 8. Le contexte joue un rôle dans le conditionnement instrumental. Le contexte peut s'associer **A)** directement avec la réponse, **B)** avec la conséquence, **C)** de manière hiérarchique avec l'association instrumentale R-O. Tirée de Bouton & Todd (2014).

Le contrôle contextuel de la réponse instrumentale participe également à la représentation de la valeur du but. En effet, des données récentes indiquent que l'influence contextuelle augmente dans des conditions où un délai important sépare la dévaluation du test (Parkes et al 2016b).

- Influence Pavlovienne

Bien que les processus de choix entre plusieurs actions possibles puissent dépendre essentiellement de la valeur du but et des relations actions-conséquences, ces processus peuvent également être guidés par la présence d'indices associés aux conséquences de l'action selon des processus de contrôle Pavlovien (S-O). Cette influence peut notamment être explorée par des procédures de **Transfert Pavlovien-Instrumental** ou PIT (Corbit & Balleine 2016, Holmes et al 2010). Dans une expérience typique de ce type, les sujets apprennent dans un premier temps que des stimuli prédisent l'obtention de récompenses selon des associations S-O. Dans un second temps, les animaux doivent apprendre de manière active à effectuer une action, telle que l'appui sur un levier, pour obtenir cette récompense, selon des associations R-O. Lors de la phase de transfert, on constate alors que la présentation du stimulus S précédemment associé à une récompense O peut induire l'exécution de l'action permettant d'obtenir cette même récompense¹.

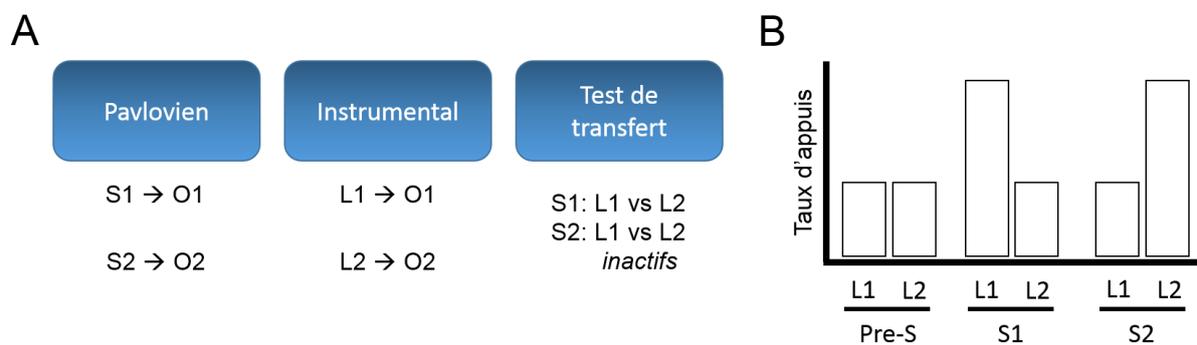


Figure 9. Transfert Pavlovien-Instrumental. **A.** La première étape consiste en un conditionnement Pavlovien entre deux stimuli (S1 et S2) et deux récompenses (O1 et O2). La seconde étape est un conditionnement instrumental entre deux leviers (L1 et L2) et les deux mêmes récompenses (O1 et O2). La capacité des stimuli à biaiser la réponse instrumentale est ensuite évaluée lors d'un test en extinction au cours duquel les leviers sont disponibles. **B.** La présentation d'un stimulus induit une augmentation de la réponse instrumentale, spécifiquement sur le levier préalablement associé à la même récompense.

¹ Outre l'effet de transfert spécifique, le PIT peut également être médié par un transfert général (Holmes et al 2010). C'est-à-dire que la présentation d'un stimulus induit une augmentation générale de la performance instrumentale, sans spécificité vis-à-vis de la récompense. Cette dichotomie entre les types de transfert peut être expliquée par la formation de deux types d'associations Pavloviennes. Le transfert général serait basé sur le conditionnement du stimulus aux propriétés motivationnelles générales de la récompense. Le transfert spécifique résulterait du conditionnement du stimulus aux caractéristiques sensorielles intrinsèques de la récompense. Ces deux types de transfert mettent en jeu des structures cérébrales différentes (Cartoni et al 2016 ; Corbit & Balleine, 2005).

Selon son interprétation la plus classique, le transfert implique un mécanisme en chaîne dans lequel la présentation du stimulus évoque la représentation de O, qui elle-même active la réponse par un processus O-R. Ainsi défini, le transfert constitue un mécanisme très puissant pour l'initiation et la sélection des actions. Il est important de noter ici que la fonction de l'outcome (O) est celle d'un stimulus informatif (O^S) susceptible d'induire une réponse X sous la forme S-R. L'action X peut également résulter d'un processus d'évaluation médiée par les propriétés de but de l'outcome O (O^V) qui intègre donc sa valeur (Figure 10).

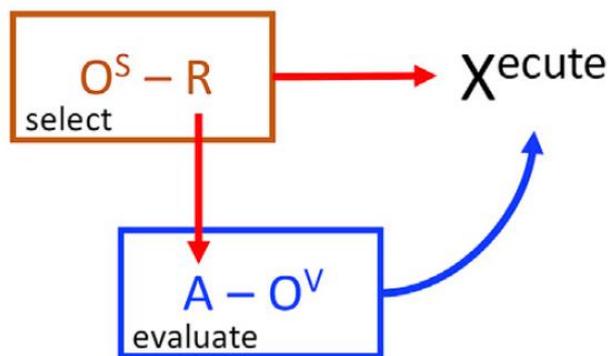


Figure 10. Tirée de Balleine (2019)

ii) Evaluation

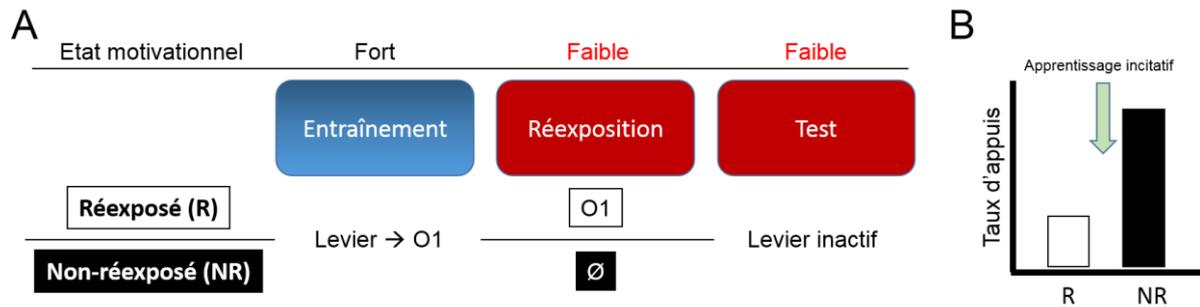
- Motivation primaire

De toute évidence, les processus d'évaluation sont au centre du contrôle instrumental. Ces processus dépendent de l'état interne du sujet. Bien entendu, il est logique de penser que ce qui motive un animal à appuyer sur un levier est son état de motivation primaire (p. ex. faim). On observe, en effet, des performances instrumentales plus élevées chez des animaux en privation alimentaire que chez des animaux non privés (Balleine 1992), suggérant ainsi que l'état de faim influe directement sur la valeur de la récompense. Cette idée est retrouvée chez Hull et sa théorie du « drive » motivationnel (1943), selon laquelle les états de motivation primaire stimulent les réponses comportementales.

- Apprentissage incitatif

Les données actuelles indiquent que le contrôle motivationnel de la réponse dirigée vers un but ne résulte pas d'un simple contrôle par l'état de motivation primaire de l'animal (ex : faim, soif). Au contraire, des données chez l'animal ont démontré l'importance d'un processus d'apprentissage particulier, dénommé « apprentissage incitatif » (*incentive learning*, Balleine & Dickinson 1998a). Dans son acception courante, l'apprentissage incitatif correspond à l'apprentissage qui permet à l'animal, par contact consommatoire direct et indépendant de toute réponse, d'ajuster la valeur du but en fonction

de son état motivationnel. Ce phénomène a été pour la première fois mis en évidence expérimentalement par le groupe de Dickinson et Balleine (Balleine & Dickinson 1994) dont les résultats sont décrits dans la Figure 11. Les animaux diminuent leurs réponses d'appui uniquement dans la condition réexposée, attestant ainsi de la nécessité de l'apprentissage incitatif pour apprendre à ajuster la réponse instrumentale de manière cohérente avec l'état motivationnel.



Des processus similaires sont à l'œuvre dans le cas de la dévaluation par malaise digestif. En effet, dans un ensemble d'expériences, Balleine & Dickinson (1991) ont montré qu'un appariement unique de la nourriture avec un malaise gastrique n'a d'effet sur la performance instrumentale que si les animaux sont réexposés à la nourriture précédemment dévaluée (Figure 12). De fait, la valeur incitative de la récompense ne peut être réduite que par apprentissage incitatif permise par le contact avec la nourriture postérieurement à la dévaluation.

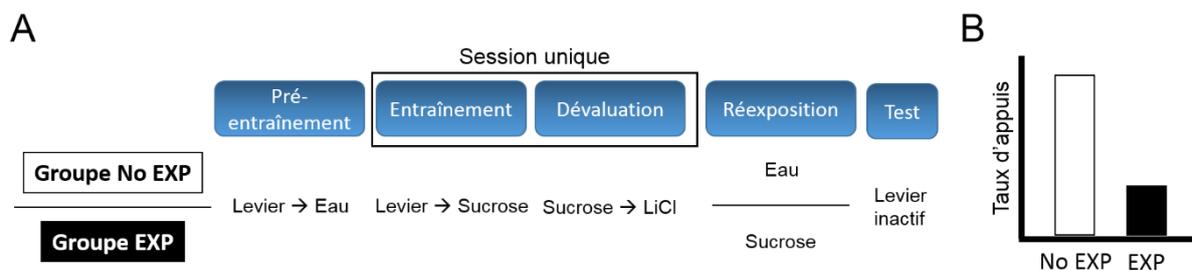


Figure 12. Procédure utilisée par Balleine & Dickinson (1991). **A.** Tous les animaux reçoivent un pré-entraînement afin d’acquérir la réponse instrumentale. Suite à cela, lors d’une session unique, le levier est associé à une solution sucrée. Immédiatement après cette session les animaux reçoivent du LiCl afin d’induire une dévaluation du sucrose par malaise gastrique. Seuls les animaux du groupe EXP sont réexposés ensuite à la solution de sucrose. Enfin, un test en extinction est réalisé. **B.** Seuls les animaux réexposés au sucrose diminuent leur taux d’appuis sur le levier. Un apprentissage incitatif peut avoir lieu uniquement chez les rats ayant été réexposés à la solution de sucrose.

Il est à noter que ces données sont en accord avec diverses discussions antérieures dont celle de Garcia (1989) qui avait proposé le changement de valeur résulte d’un changement dans la perception du goût de l’aliment. Ce changement serait induit par un retour d’information d’un système de dégoût, sensible au malaise gastrique. C’est ce mécanisme en feed-back qui est activé lorsque le goût de l’aliment est de nouveau rencontré. Par cette connexion, la représentation de l’aliment sera par la suite suffisante pour provoquer une réaction de dégoût. Un tel mécanisme est à l’œuvre dans le contrôle instrumental après dévaluation.

3) Expression

L’intégration de l’ensemble des informations des étapes d’encodage et d’évaluation vont aboutir à l’expression d’une réponse comportementale lors du test. Ce test est réalisé en conditions d’extinction, c’est-à-dire que les *manipulanda* sont inactifs. L’animal n’a par conséquent aucun retour sensoriel de la récompense qui lui permettrait de guider son comportement. Seuls les processus associatifs et évaluatifs qui auront été acquis durant les étapes précédentes seront mis en jeu. Comme nous l’avons vu, de tels processus intègrent des facteurs externes (p. ex. le contexte) et des facteurs internes (p. ex. apprentissage incitatif) à l’organisme. Dans le cadre de l’action dirigée, la réponse de l’animal est basée sur une représentation riche des conséquences de ses actions, qui lui permet d’intégrer les associations instrumentales liées à ces conséquences et la valeur de celles-ci. Ainsi, la réponse de l’animal est orientée vers l’action la plus favorablement évaluée (Adams & Dickinson 1981, Colwill & Rescorla 1985b).

2.3 Flexibilité des actions dirigées vers un but

Dans un environnement fluctuant, le sujet est amené à mettre à jour ses connaissances de manière continue. Dans le cas du contrôle comportemental, des changements de l'environnement peuvent correspondre à des changements dans les conséquences de l'action entreprise. Si la nature de la conséquence est modifiée, il peut s'agir d'une inversion d'identité (*identity reversal*). Il est apparu que les sujets adaptent leur réponse de manière flexible face à ces nouvelles contingences. L'explication la plus naturelle du phénomène est que les nouvelles contingences se substituent aux anciennes, mais plusieurs éléments suggèrent que ce n'est pas le cas. Par exemple, Rescorla (1996) a effectué l'expérience décrite en Figure 13.

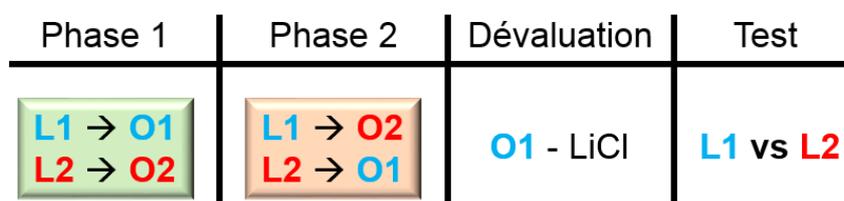


Figure 13. Protocole utilisé par Rescorla (1996) par lequel il montra l'existence d'une interférence entre les phases.

Lors du test après dévaluation de l'une des récompenses, les deux réponses associées à la même récompense étaient impactées de la même manière. Il semblait ainsi que l'expression des deux associations instrumentales était en compétition du fait de l'interférence entre les phases d'apprentissage et d'inversion. De fait, l'expression d'une réponse adaptée à l'inversion d'identité requiert une influence diminuée de l'interférence. Récemment, une série d'études du groupe de B. Balleine, en utilisant un protocole semblable tel que présenté en Figure 14, a délimité les caractéristiques comportementales de l'inversion d'identité (Bradfield & Balleine 2017, Bradfield & Hart 2019).

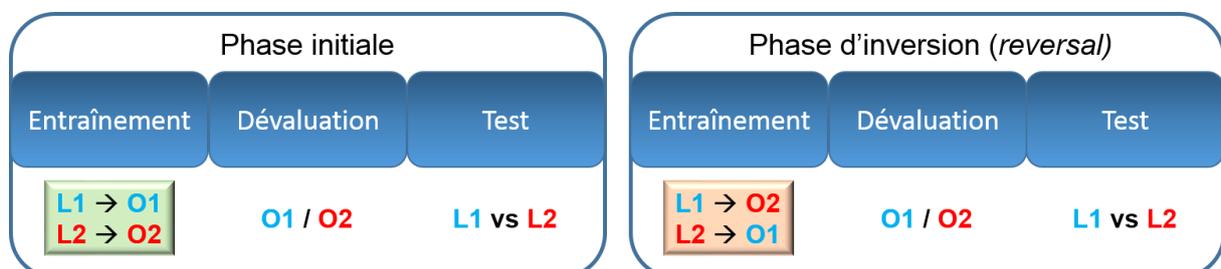


Figure 14. Procédure instrumentale d'inversion d'identité (*identity reversal*). Dans une phase initiale, les animaux apprennent à associer un levier (L1) à une récompense (O1) et un deuxième levier (L2) à une autre récompense (O2). Les animaux sont ensuite testés après dévaluation de l'une des deux récompenses par satiété spécifique. La phase d'inversion (*reversal*) débute par un entraînement différant du précédent uniquement par les associations instrumentales qui sont dorénavant inversées (L1-O2 et L2-O1). De la même manière que lors de la phase initiale, un test est réalisé après dévaluation de l'une des deux récompenses. Si l'animal a bien intégré les nouvelles associations, il doit être capable de biaiser ses réponses vers le levier plus récemment associé à la récompense non dévaluée.

Ces expériences ont en particulier démontré d'une part que l'interférence diminue avec une augmentation du nombre de sessions d'inversion et que d'autre part le contrôle comportemental lié aux premières contingences peut être restauré après un délai selon un mécanisme de récupération spontanée. Dans leur ensemble, ces données suggèrent donc que le contrôle comportemental à la suite d'une inversion ne résulte pas de la substitution des contingences, mais plutôt que les nouvelles contingences sont ajoutées aux précédentes sans les affecter.

La cohabitation efficace des apprentissages se fait possiblement par leur compartimentation dans ce que l'on appelle des « états ». Un état peut être considéré comme une représentation interne à l'animal des informations déterminant sa situation actuelle dans une tâche (Behrens et al 2018, Langdon et al 2019, Wilson et al 2014). Cette représentation peut notamment inclure les associations instrumentales appropriées à chacune des phases de la tâche d'inversion d'identité. En d'autres termes, un état peut être vu comme un contexte interne à l'animal auquel seront associées les associations instrumentales, permettant ainsi la sélection de l'action appropriée dans un contexte donné.

2.4 Habitudes

Les nombreuses études indiquant que les réponses instrumentales sont sous le contrôle d'associations de type A-O n'excluent cependant pas que celles-ci puissent également impliquer des processus de type S-R, comme ce qui avait été initialement décrit. Les études d'Adams et Dickinson (Adams 1982, Balleine & Dickinson 1998b) ont notamment permis de montrer que des actions initialement dirigées vers un but peuvent devenir insensibles à leurs conséquences. En effet, dans une procédure classique, des rats ayant reçu un apprentissage prolongé n'adaptent plus leurs réponses instrumentales lorsque la récompense est dévaluée (Figure 15). De même, un entraînement instrumental intensif induit une insensibilité des réponses à des changements de contingence (Balleine & Dickinson 1998b). L'ensemble de ces observations indiquent que dans certaines conditions, les actions instrumentales ne sont pas dépendantes des conséquences de l'action mais apparaissent au contraire comme des actions réflexes contrôlées par des associations de type S-R. On parle alors de **réponses habituelles** ou simplement d'**habitudes** (*habits*).

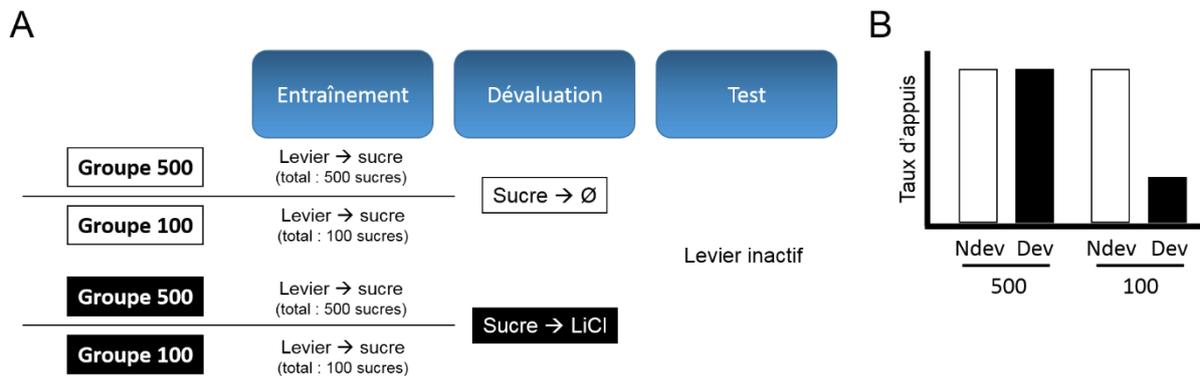


Figure 15. Procédure adaptée de Adams (1982). **A.** Deux groupes de rats étaient entraînés à associer un levier à une récompense. Les rats du groupe 500 recevaient de nombreuses sessions instrumentales journalières aboutissant à un total de 500 récompenses obtenues. Les rats du groupe 100 recevaient un nombre limité de sessions instrumentales pour un total de 100 récompenses obtenues. Ensuite, la récompense était dévaluée par appariement à un malaise gastrique (LiCl) chez la moitié des animaux de chaque groupe, avant un test en extinction. **B.** Les résultats du test en extinction montrent qu'au contraire des rats du groupe 100, les rats ayant été entraînés de manière intensive ne sont pas sensible à la dévaluation.

2.5 Coordination des actions et habitudes

Le contrôle instrumental résulte de deux formes d'apprentissages, l'un étant basé sur l'encodage de relations A-O et l'autre sur la formation de relations S-R. Les premières études montrant qu'un entraînement intensif rendait la réponse habituelle ont conduit Dickinson (1985) à proposer que les deux types de réponses survenaient de manière séquentielle. La réponse dirigée s'établirait au début de l'entraînement puis la réponse habituelle prendrait peu à peu le dessus, fruit de la répétition du comportement. Depuis, cette conception a été revue puisque des études ont montré que les réponses habituelles peuvent être observables suite à un entraînement seulement modéré en altérant les substrats cérébraux de la réponse dirigée (Corbit & Balleine 2003, Coutureau & Killcross 2003). De même, par des lésions des substrats cérébraux des habitudes, une réponse normalement habituelle peut être de type dirigée (Coutureau & Killcross 2003, Yin & Knowlton 2006). Ces éléments indiquent que les deux types d'associations, A-O et S-R, se développent en même temps et sont capables de contrôler la réponse de l'animal. De nombreuses études ont permis de mettre en évidence plusieurs facteurs impliqués dans la coordination des actions dirigées et des habitudes. Ceux-ci vont influencer le processus (S-R ou A-O) contrôlant la réponse instrumentale.

1. Niveau et programme d'entraînement

L'étude de Adams (1982) décrite précédemment, met en avant le rôle crucial du niveau d'entraînement, dont l'impact sur le contrôle comportemental pourrait dépendre du programme de renforcement (Dickinson 1985). Selon cette théorie en effet, des programmes en intervalle qui résultent d'une faible

corrélation entre taux de récompense et taux d'appuis pourraient favoriser le contrôle par les habitudes (Dickinson et al 1983, Gremel et al 2016, Gremel & Costa 2013a, Gremel & Costa 2013b, Renteria et al 2018). D'autres études à la fois chez l'homme (de Wit et al 2018) et chez l'animal (Garr et al 2019) nuancent néanmoins une telle analyse et doivent conduire à considérer d'autres paramètres.

2. Complexité

Au-delà de la quantité d'entraînement, diverses études ont démontré que le contrôle comportemental dépend de la complexité des associations à encoder. En effet, alors qu'un entraînement intensif d'une seule association rend la réponse insensible à des changements de valeur, ce n'est pas le cas lorsque la tâche comporte deux associations A-O concurrentes (Colwill & Rescorla 1985a, Kosaki & Dickinson 2010). Un tel entraînement concurrent induit des périodes de variabilité dans les réponses instrumentales (*i.e* pendant que l'animal appuie sur un levier, il n'appuie pas sur l'autre) et permet la détection continue de la corrélation A-O. Ceci favoriserait donc un processus de contrôle de l'action dirigée et ce, même dans des conditions d'entraînement intensif (Kosaki & Dickinson 2010).

3. Drogues d'abus

De nombreuses données ont démontré que les drogues d'abus influencent de manière drastique les mécanismes de contrôle instrumental. Cette influence s'opère aussi bien lorsque les sujets doivent effectuer une action pour se procurer la drogue elle-même (Dickinson et al 2002) que lorsque les sujets sont exposés passivement à la drogue. Par exemple, l'apparition d'une réponse de type habitudes lors d'un conditionnement avec de l'alcool est progressive et apparaît à un stade auquel le conditionnement avec une récompense alimentaire classique est toujours dépendant d'un contrôle dirigé A-O (Corbit et al 2012, Hogarth et al 2012), suggérant ainsi une accélération de la mise en place des habitudes sous l'action de l'alcool (Patton et al 2016). Une importante influence sur le système habitude a également été observée sous l'action d'une grande variété de drogues d'abus, comme la cocaïne (Corbit et al 2014, Pierce & Vanderschuren 2010, Vandaele et al 2019), l'amphétamine (Furlong et al 2018, Nelson & Killcross 2006, Nordquist et al 2007), le cannabis (Goodman & Packard 2015) ou encore la nicotine (Clemens et al 2014, Loughlin et al 2017).

4. Contexte

Les facteurs environnementaux jouent aussi un rôle. Parmi eux, le contexte, déjà évoqué précédemment, semble jouer un rôle primordial sur le contrôle comportemental. Dans une série d'expériences, Thrailkill & Bouton (2015) ont montré qu'un changement de contexte instrumental, lors d'un test après dévaluation, influe sur la réponse habituelle des animaux. Killcross & Coutureau (2003)

ont entraîné des rats de manière intensive pour une action dans un contexte A et de manière modérée pour une autre action dans un autre contexte B. Après dévaluation, la réponse des animaux est habituelle dans le contexte A et dirigée dans le contexte B. Gremel & Costa (2013a) ont également réalisé ce type d'expérience en appliquant un programme de renforcement en intervalle dans un contexte A, et un programme de renforcement en ratio dans un contexte B. Lors d'un test, les animaux répondaient de manière habituelle dans le contexte A et de manière dirigée dans le contexte B. Ces résultats indiquent que le contexte est également intégré par les animaux et interagit avec le système contrôlant la réponse instrumentale.

5. Stress

Un autre facteur environnemental rentrant en jeu est le stress, il a en effet été montré qu'un stress chronique conduit à un développement anormal de réponses habituelles chez la souris (Dias-Ferreira et al 2009). Ce phénomène a également été observé chez l'humain pour lequel un stress aigu, avant ou après entraînement, rend la réponse instrumentale insensible à une dévaluation (Schwabe & Wolf 2011). A l'instar des drogues d'abus, l'exposition au stress semble biaiser le contrôle comportemental au profit d'un contrôle S-R.

6. Modèle cybernétique-associatif

La coordination des actions et habitudes est un phénomène complexe, nécessitant son intégration dans des modèles formels, qu'ils soient psychologiques ou computationnels (Boîte 1).

Le modèle psychologique le plus influent de la littérature actuelle est le modèle associatif-cybernétique (Balleine 2019, Dickinson 2012).

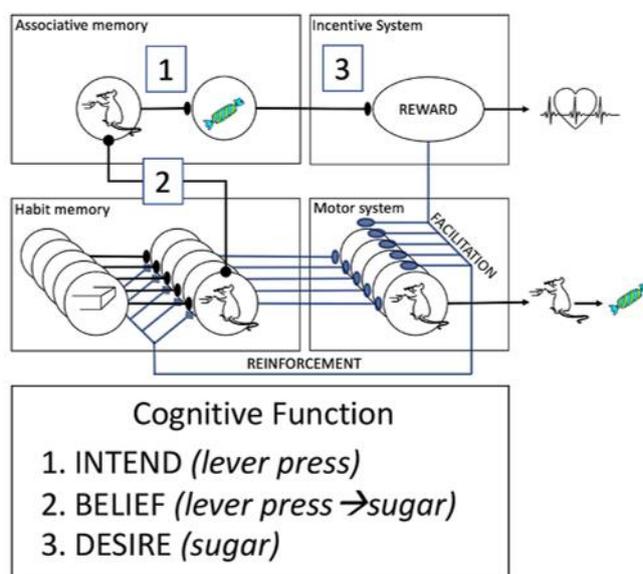


Figure 16. Modèle cybernétique-associatif tel que proposé par Dickinson (1994). Tirée de Balleine (2019)

L'intégration des informations des phases d'encodage et d'évaluation est nécessaire pour l'expression d'une réponse adaptée, ainsi que le propose le modèle cybernétique-associatif (de Wit & Dickinson 2009, Dickinson 1994), résumé dans la Figure 16.

Les actions naissent dans le système **habitudes** formé d'une panoplie d'unités comportementales, ces comprenant des réponses non entraînées. De plus, ces unités peuvent potentiellement être connectées à des unités sensibles à des stimuli environnementaux. C'est par l'apprentissage que cette connexion et le niveau d'activité de ces unités vont être augmentés. La résultante de ce système **habitudes** va directement se transmettre aux unités motrices correspondantes dans le système moteur, permettant ainsi l'expression comportementale, c'est ce que le modèle décrit comme la voie directe. Cette voie directe, n'est pas, à elle seule, capable d'activer les unités motrices et donc d'initier le comportement. Par conséquent, le modèle intègre un système **associatif**. La représentation, par l'animal, de son propre comportement va activer une unité dans ce système. La deuxième unité de ce système **associatif** correspond à la représentation de la conséquence. L'association cruciale, à la base de l'action dirigée, entre l'action et la conséquence est formée dans ce système lorsque les deux unités viennent à être activées de manière contingente.

Nous l'avons vu, l'action dirigée est dépendante de l'évaluation des conséquences, ce modèle inclut donc un système **incitatif**. L'animal qui apprend la valeur des conséquences par contact avec celles-ci forme une association entre une conséquence appétitive et une unité *récompense* (*reward*) dans ce système. La résultante, dans un processus en retour, peut renforcer l'association formée dans le système habitudes mais joue également un rôle facilitateur de l'activation des unités motrices. C'est la convergence entre le retour provenant du système incitatif et la voie directe du système habitudes qui va permettre d'activer efficacement l'unité motrice. A l'inverse, la représentation de la conséquence peut également s'associer à une unité *punition* (non représentée dans la Figure 16) dans le système **incitatif**, notamment lors d'une dévaluation, ce qui va inhiber l'activation de l'unité motrice correspondante. Cette voie en retour va permettre l'expression comportementale d'une action dirigée. En effet, par le système associatif, celle-ci est sensible à la contingence entre les actions et les conséquences (critère de conviction ou contingence, *belief*) et, par le système incitatif, à la valeur de ces conséquences (critère de désirabilité ou but, *desire*). Ces deux précédents critères révèlent le caractère intentionnel d'une action (Balleine & Dickinson 1998b, Balleine & O'Doherty 2010, de Wit & Dickinson 2009). Comme mentionné précédemment, au début de l'apprentissage, la voie directe à elle seule ne peut initier le comportement. Cependant, plus l'association S-R se renforce et plus elle devient capable d'activer les unités motrices sans l'action de la voie en retour. Ainsi, tout facteur stimulant cette association favorise la mise en place de réponses habituelles, indépendantes de la conséquence de l'action telle qu'intégrée dans les systèmes associatif et incitatif.

Boîte 1 – Modèles computationnels pour la coordination actions dirigées/habitudes

L'étude des processus de contrôle de l'action chez l'animal a permis de mettre en évidence la cohabitation de deux systèmes, l'un permettant l'action dirigée (A-O) et l'autre les réponses habituelles (S-R). La coexistence de ces deux systèmes suggère une coordination fine permettant le passage de l'un à l'autre en fonction des conditions de l'environnement. Sur ce point, l'union entre neurosciences et sciences computationnelles a permis des avancées significatives, notamment grâce à des modèles d'apprentissage par renforcement (*reinforcement learning*, RL). Ce champ cherche à modéliser le comportement d'un agent sélectionnant des actions lui permettant de maximiser l'obtention de récompenses. Sur la base de la théorie du double système (*dual-system theory*) contrôlant la réponse instrumentale (système A-O et S-R), deux modèles de stratégie ont été décrites (Daw et al 2005). La stratégie *model-based*, censée contrôler les actions dirigées, et la stratégie *model-free*, censée contrôler les réponses habituelles (Figure 1).

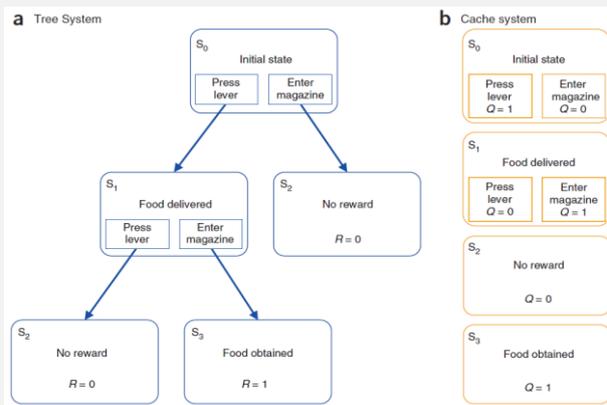


Figure 1. La stratégie *model-based* est basée sur un système en « arbre » dans lequel l'agent évalue les actions disponibles dans chaque état et acquiert une connaissance de la transition entre ces états. Ceci lui permet de construire un modèle de l'environnement. La stratégie *model-free* fonctionne par un système de cache dans lequel les états sont indépendants et la valeur de chaque action est basée sur le principe de renforcement. Tirée de Daw et al (2005).

La stratégie *model-based* est basée sur un système en « arbre » (Figure 1a). Elle consiste en la computation de prédictions à court-terme concernant chaque action disponibles dans un état. La résultante de chaque action conduit à un autre état et les actions disponibles font elles-mêmes l'objet de prédictions jusqu'à l'obtention d'une récompense ou non. Tous ces états s'intègrent dans une séquence apprise par l'agent. Celui-ci se comporte donc en se basant sur la transition entre ces états. On dit que l'agent construit un modèle interne de son environnement. Bien que très efficace pour répondre de manière adaptée face à des changements dans l'environnement, cette stratégie est très coûteuse, d'autant plus si l'arbre de possibilités s'étend de manière importante.

A l'inverse, la stratégie *model-free* se base sur des opérations de « cache » (Figure 1b) consistant à associer une action avec sa valeur à long-terme. Ici, la valeur d'une action est simplement attribuée sur la base de l'historique de récompenses obtenues en réalisant cette action. Cette stratégie est

l'application computationnelle de la Loi de l'Effet (Thorndike 1911) que nous avons vu précédemment. Les actions ne sont donc pas représentées selon leur conséquence, celles-ci ne servant que de renforcement, si elles s'avèrent positives. Par conséquent, cette stratégie est bien moins coûteuse mais se révèle beaucoup moins flexible face à des changements dans l'environnement. En effet, les états étant indépendants, un changement dans un état n'impacte pas directement les autres. Pour ceux-ci, la valeur en "cache" ne pourra être modifiée que par expérience.

De fait, les caractéristiques des stratégies *model-based* et *model-free* apparaissent respectivement homologues à la flexibilité de l'action dirigée et à l'inflexibilité des habitudes. L'organisation de ces stratégies a donné lieu à l'établissement de différentes théories.

1) Organisation plate

Daw et al (2005) ont proposé une organisation plate dans laquelle un passage bidirectionnel des actions dirigées aux réponses habituelles se réalise de manière compétitive. Selon cette proposition, lorsqu'une décision doit être prise, les deux systèmes répondent à la situation. C'est un "arbitre" qui évalue quelle stratégie est la plus favorable dans cette situation et active donc le système approprié (Figure 2B).

2) Organisation hiérarchique

D'autres propositions font état d'une organisation hiérarchique entre les deux systèmes. C'est notamment la proposition de Dezfouli & Balleine (2013), qui considèrent les réponses habituelles, non pas comme des réponses individuelles, mais comme des séquences de réponses successives. L'activation d'une telle séquence serait sous le contrôle du système A-O qui a appris les associations entre les séquences d'actions et le but recherché (Figure 2A).

Cependant, il est à noter qu'au contraire de l'organisation plate, la modélisation de Dezfouli & Balleine (2013) se base sur des résultats d'une tâche de prise de décision à deux-étapes (*two-stage decision making*). Cette proposition ne se basant pas sur une tâche instrumentale simple, telle que décrite dans ce manuscrit, il est difficile de la replacer dans notre contexte.

Néanmoins, sur la base de ces travaux, il est clair que la capacité d'exprimer l'une ou l'autre des stratégies est essentielle à l'adaptation aux contraintes de l'environnement. La description de leur coordination reste à l'heure actuelle sujette à de nombreuses autres propositions (Cushman & Morris 2015, Keramati et al 2016, Miller et al 2019).

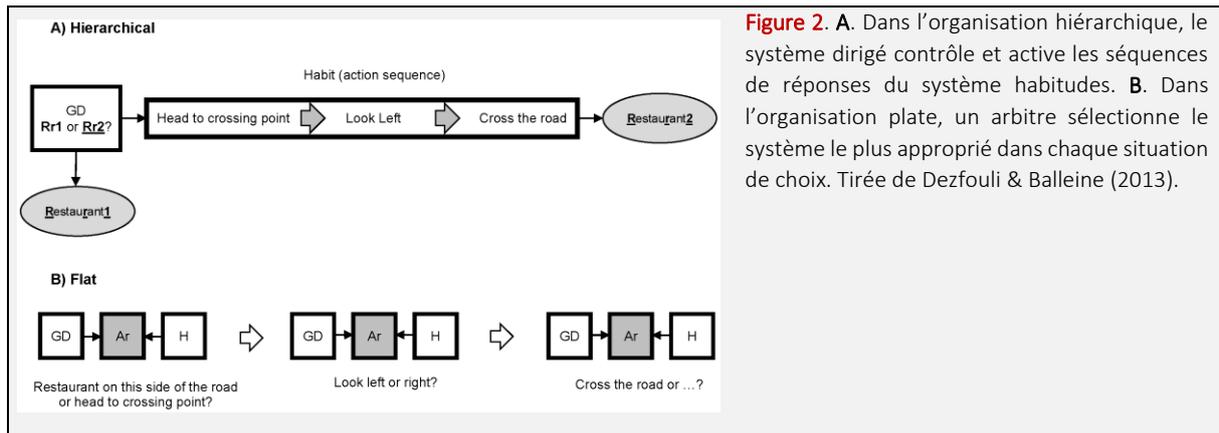


Figure 2. A. Dans l'organisation hiérarchique, le système dirigé contrôle et active les séquences de réponses du système habitues. **B.** Dans l'organisation plate, un arbitre sélectionne le système le plus approprié dans chaque situation de choix. Tirée de Dezfouli & Balleine (2013).

II) Circuits neuronaux des actions dirigées et habitudes

1) Circuits de l'action dirigée (A-O)

1.1 Régions corticales

a) Cortex préfrontal dorsomédian

Les premières études ont mis en œuvre des lésions réalisées avant l'apprentissage. Ainsi de telles lésions de la partie prélimbique (PL) du cortex préfrontal médian dorsal (dmPFC, voir Boîte 2), rendent la réponse instrumentale insensible à la dévaluation (Balleine & Dickinson 1998b, Corbit & Balleine 2003, Coutureau et al 2009, Killcross & Coutureau 2003, Ostlund & Balleine 2005). Les lésions étant permanentes, la contribution précise de cette structure ne pouvait être établie sur la base de ces résultats. Néanmoins, l'étude de Ostlund & Balleine (2005) démontra qu'une lésion réalisée après la phase d'encodage n'impactait pas la réponse lors du test après dévaluation, suggérant ainsi que le dmPFC était impliqué lors de l'étape d'encodage et non d'expression (test) de l'action dirigée (mais voir Shipman et al 2018). Cette interprétation a été confirmée par l'inactivation pharmacologique transitoire du dmPFC lors de l'encodage (Tran-Tu-Yen et al 2009). Celle-ci résultait en une réponse insensible à la dévaluation, tandis qu'une inactivation lors du test uniquement n'avait, elle, aucun effet, confirmant ainsi un rôle du dmPFC restreint à l'encodage des associations instrumentales. Par ailleurs, une étude a montré une activation accrue de la voie de signalisation MAPK/ERK, caractéristique de modifications neuronales à la base de l'apprentissage, dans le dmPFC suivant un entraînement court (une session d'entraînement instrumental). De plus, l'inhibition de cette voie dans le dmPFC empêche la formation/consolidation des associations instrumentales (Hart & Balleine 2016). Le rôle du dmPFC a également été étudié par des méthodes électrophysiologiques montrant que l'activité des neurones du dmPFC reflète l'anticipation d'une récompense suite à l'exécution de l'action, suggérant que cette activité intègre le lien entre action et conséquence (Del Arco et al 2017, Onos et al 2016). De plus,

l'apprentissage des associations A-O serait le fruit de modifications de l'excitabilité neuronale et de co-variations dans les décharges de neurones du dmPFC (Singh et al 2019).

D'autres données ont montré que l'implication du dmPFC ne se limite pas à un rôle dans l'adaptation à des changements de valeur puisque des lésions permanentes ou inactivation transitoire du dmPFC altèrent la capacité d'adaptation à une dégradation de contingence (Corbit & Balleine 2003, Coutureau et al 2012, Swanson et al 2017). Il est probable que cette capacité résulte du fonctionnement de microcircuits préfrontaux régulés par les entrées dopaminergiques issues de l'aire tegmentale ventrale (Naneix et al 2009 mais voir Lex & Hauber 2010) et qui mûrissent spécifiquement durant l'adolescence (Naneix et al 2012, Naneix et al 2013). De plus, des changements de contingence induisent des modifications dans les microcircuits préfrontaux par un mécanisme de remodelage des épines dendritiques au sein des couches profondes du dmPFC (Swanson et al 2017).

b) Cortex insulaire

Balleine & Dickinson (2000) ont montré qu'une lésion du cortex insulaire, et notamment de sa portion gustative (ICg), avant la phase d'entraînement résultait en une réponse insensible à la dévaluation. Contrairement au dmPFC, l'inhibition pharmacologique ou pharmacogénétique de l'ICg durant l'entraînement n'a aucun effet (Parkes et al 2016a, Parkes et al 2018). En revanche, les mêmes procédures appliquées au moment du test perturbent l'action dirigée (Parkes & Balleine 2013, Parkes et al 2018), suggérant ainsi que l'ICg est impliqué dans l'utilisation de la représentation de la valeur pour guider le choix. Il est apparu que l'ICg recevait des informations sur la valeur en provenance de la partie basolatérale de l'amygdale (Parkes & Balleine 2013) et interagissait avec la partie cœur (*core*) du noyau accumbens pour contrôler la performance lors du choix (Parkes et al 2015).

c) Cortex orbitofrontal médian

Des lésions pré-entraînement de la partie médiane du cortex orbitofrontal (MO) (Bradfield et al 2015) et en particulier de sa partie antérieure (Bradfield et al 2018) altèrent la réponse dirigée vers un but. Des perturbations au niveau du MO au moment du test induisent un déficit de réponse dirigée, ce qui le différencie du dmPFC. De manière intéressante, ce déficit est retrouvé uniquement dans des situations où la conséquence n'est pas observable (p. ex. test en extinction) mais pas dans des situations où la conséquence est observable (p. ex. dégradation de contingence).

Boîte 2 – Le cortex préfrontal

Architecture

Caractéristique des mammifères, le néocortex est la zone la plus externe des hémisphères cérébraux. Sa partie la plus antérieure comprend le cortex préfrontal (PFC) qui a atteint sa taille maximale et son niveau de complexité le plus élevé au cours de l'évolution du primate. A l'instar de l'ensemble du néocortex, le PFC est organisé en couches corticales pouvant varier selon les régions. Cependant un schéma général en six couches parallèles est observable (Boretius et al 2009). La couche la plus externe est la couche I, couche moléculaire, contenant peu de neurones mais un grand nombre de fibres afférentes parallèles à la surface et de dendrites des neurones situés dans les couches plus profondes. La couche II, couche granulaire externe, contient des populations denses de neurones pyramidaux de petite taille. La couche III, couche pyramidale externe, contient des cellules pyramidales de taille moyenne. Ces deux dernières couches reçoivent les afférences d'autres structures corticales et projettent vers celles-ci, jouant donc un rôle crucial pour les interactions cortico-corticales. La couche IV, couche granulaire interne, est le lieu de projection principale des afférences provenant du thalamus médiodorsal. Elle contient quelques neurones pyramidaux mais en grande majorité des cellules granulaires de très petite taille. Cette couche, qui n'est bien différenciée que chez le primate, a initialement servi de critère pour définir le PFC (voir plus bas). La couche V, couche pyramidale interne, contient des neurones pyramidaux de grande taille dont les dendrites apicaux atteignent la couche I et les axones projettent vers les structures sous-corticales. La couche VI, couche polymorphe, contient des neurones pyramidaux constituant la majeure source de projections vers le MD (Gabbott et al 2005). L'ensemble de ces couches contiennent également des neurones inhibiteurs (interneurones GABAergiques) qui diffèrent selon des caractéristiques morphologiques, moléculaires, électrophysiologiques mais également selon leur site d'action (somatique, dendritique, axonal) sur les neurones excitateurs (Conde et al 1994, Lewis et al 2005).

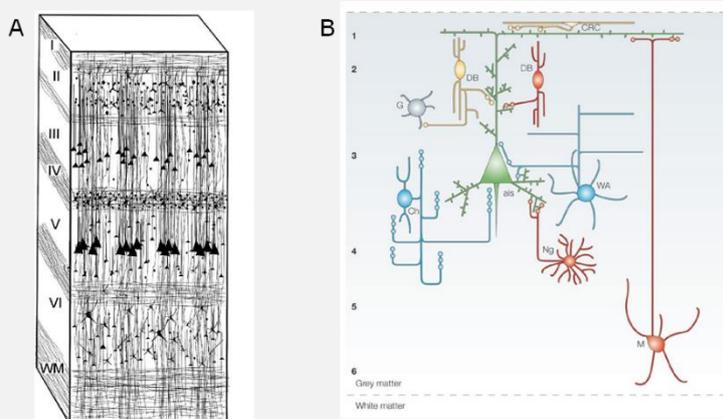


Figure 1. Représentation schématique de **A.** l'organisation des couches corticales et **B.** l'hétérogénéité des interneurones inhibiteurs à travers les couches corticales (chiffres à gauche). Les interneurones diffèrent selon l'expression de protéines liant le calcium (parvalbumine en bleu, calbindine en rouge et calrétinine en jaune). Les cellules en chandelier (Ch) agissent au niveau du segment initial de l'axone (ais). Les cellules en panier étoilées (WA) agissent au niveau somatique ou dendritique proximal. Les cellules neurogliaformes (Ng), Martinotti (M) et Cajal-Retzius (CRC) agissent au niveau dendritique distal, de même que les neurones en

double-bouquet (DB) exprimant la calbindine. Ceux exprimant la calrétinine agissent en plus sur d'autres interneurones GABAergiques (G). Tirée de Lewis et al (2005).

Délimitations

La délimitation du PFC se base sur les travaux pionniers de Brodmann (Brodmann 1909, Brodmann 1912) qui délimita une *regio frontalis*, se basant sur des critères cytoarchitectoniques. Cette région comprend des aires, considérées aujourd'hui comme préfrontales, se caractérisant par la présence d'une couche granulaire IV bien définie. L'absence de cette caractéristique dans les régions antérieures du cerveau de mammifères non-primates a fait penser que la région préfrontale est une spécificité des primates. Néanmoins, dans son étude cytoarchitectonique chez le singe, Walker (1940) a étendu la délimitation du PFC à des régions à différenciation laminaire moins nette, ne présentant pas nécessairement une couche granulaire IV bien définie. Ces classifications architectoniques du PFC ont été largement reprises par Barbas & Pandya (1989) qui les ont légèrement modifiées pour inclure la dénomination correcte des aires du cortex cingulaire telles que décrites par Vogt et al (1987). Il est actuellement généralement admis que les aires comprises dans le PFC sont les aires de 8 à 14 et les aires de 44 à 47, auxquelles s'ajoutent les aires du cortex cingulaire antérieur (ACC), 24, 25 et 32 (Figure 2). Ainsi, il est désormais commun de considérer le PFC comme regroupant des aires (dorso)-latérales, orbitofrontales et médianes. Les aires latérales, et notamment le PFC dorsolatéral (dlPFC), sont granulaires, les régions orbitofrontales et médianes sont dysgranulaires (couche IV très peu développée) ou agranulaires (Carlen 2017).

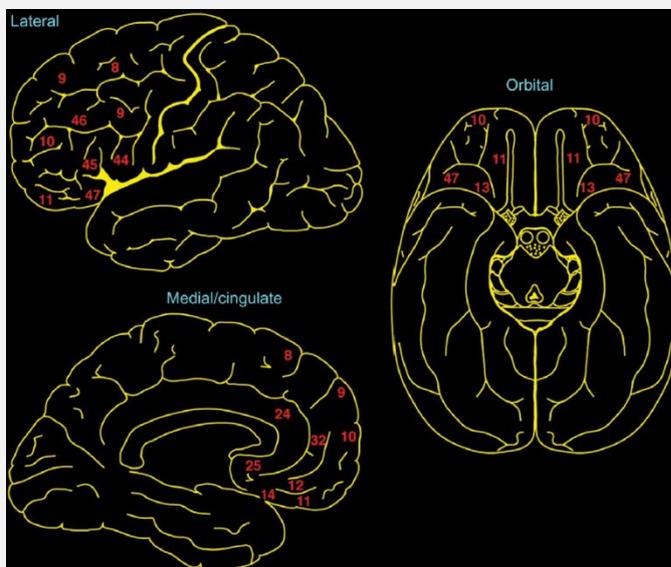


Figure 2. Le cortex préfrontal chez l'humain. Les aires cérébrales sont identifiées selon la classification de Brodmann. Adaptée de Fuster (2015).

L'extension du PFC à des aires non granulaires s'est faite sur la base de critères de connectivité ayant pour objectif de nuancer la définition stricte de Brodmann et de révéler une région équivalente chez des mammifères non-primates. La considération des projections du noyau médiodorsal (MD) du thalamus, constituant l'une des afférences majeures du PFC a montré que le MD projette vers des régions agranulaires du PFC (Rose & Woolsey 1948). Ce critère a surtout permis de mettre en

évidence un PFC chez le rongeur (Leonard 1969, Leonard 2016). Néanmoins, la découverte que la connexion MD-PFC n'était pas spécifique, a conduit à la critique de l'utilisation de cet unique critère. Reep (1984) considérant, en plus des connexions avec le MD, les connexions avec l'amygdale et l'innervation dopaminergique a mis en évidence différentes régions (médianes, orbitales et insulaires) équivalentes chez le Singe et le Rat. En revanche, il nota que l'innervation du dIPFC par le MD était spécifique au Singe, sans équivalent chez le Rat. Le dIPFC granulaire a été au centre du débat concernant l'équivalence du PFC du Rat et du Singe. Les résultats montrant des déficits comportementaux, notamment dans des tâches de mémoire de travail spatiale, similaires entre Singe et Rat après lésion du dIPFC et du PFC médian (mPFC), respectivement, a conduit à penser une certaine homologie entre ces régions (Kesner 2000). De plus, Pandya & Yeterian (1990) indiquent que le PFC a une origine double, l'une étant l'archicortex et l'autre le paleocortex. L'archicortex ayant donné, au cours de l'évolution, le mPFC et le dIPFC, et le paleocortex ayant donné le cortex ventral/orbital et le cortex latéral. Le mPFC et le dIPFC partageant une origine commune, il a été envisagé que dans une espèce comme le Rat, chez qui le dIPFC ne s'est pas développé, le mPFC puisse être vu comme une version primitive du dIPFC. Il pourrait ainsi effectivement partager des fonctions générales communes à ces structures (Brown & Bowman 2002, Kolb 2007). Cependant, les déficits de mémoire de travail spatiale étant moins importants chez le Rat, le mPFC étant agranulaire et partageant des propriétés anatomiques plus proches du mPFC du Singe, certains auteurs ont réfuté cette équivalence (Preuss 1995, Wise 2008). Selon ces auteurs, le dIPFC étant une spécificité des primates, il est plus approprié de comparer le mPFC des deux espèces.

Plusieurs régions préfrontales équivalentes ont en effet été identifiées chez le Rat et le Singe dont le mPFC mais aussi des régions orbitofrontales et insulaires (Groenewegen 1988, Krettek & Price 1977, Leonard 1969, Reep 1984, Uylings & van Eden 1990). Chez le Rat, les critères de définition du PFC généralement admises à l'heure actuelle ont été résumés par Uylings et al (2003) qui ont proposé que soient considérés les critères tels que les propriétés anatomiques, les propriétés fonctionnelles (électrophysiologiques, comportementales), la présence de neuromédiateurs et la distribution de leurs récepteurs, le développement embryonnaire ainsi que les critères cytoarchitectoniques. Leurs travaux ont divisé le PFC en trois parties (Figure 3) :

- une partie médiane comprenant au niveau dorsal le cortex cingulaire et au niveau ventral le cortex prélimbique (PL), infralimbique (IL), et le cortex orbitofrontal médian (MO).
- une partie ventrale comprenant le cortex orbitofrontal ventral (VO) et ventrolatéral (VLO) et latéral (LO).

- une partie latérale comprenant le cortex orbitofrontal (LO) et le cortex insulaire agranulaire ventral (AIV) et dorsal (AID).

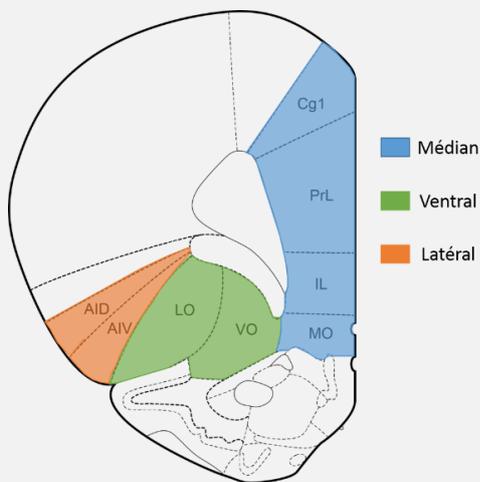


Figure 3. Subdivisions du PFC chez le Rat. Adaptée de Paxinos & Watson (2007)

-Ventral

Bien que distingué sur des critères cytoarchitectoniques chez le Rat (Van De Werd & Uylings 2008) et la Souris (Van De Werd et al 2010), le VLO (placé entre le VO et le LO) n'est pas retrouvé dans l'atlas de Paxinos & Watson, communément utilisé pour la chirurgie stéréotaxique (Figure 3). Chez le Rat, l'OFC étant uniquement agranulaire, il a été suggéré que ces sous régions correspondent aux aires agranulaires dans la partie centro-caudale de l'OFC du Primate (Price 2007, Wise 2008). L'étude de la connectivité au sein de l'OFC et de régions médianes chez le Primate a révélé l'existence de deux circuits, un circuit orbital regroupant les aires insulaires, et les aires orbitales latérales et centrales, et un circuit médian regroupant les aires du mPFC et les aires médianes de l'OFC (Carmichael & Price 1996). Il a été suggéré que cette organisation existe chez le Rat, associant ainsi le MO et le mPFC (Ongur & Price 2000, Price 2007). Une étude récente établissant des homologies entre Rat et Primate sur la base de la connectivité préfronto-striatale a dissocié le MO (mOFC chez le Primate) de l'ensemble VO/LO (OFC central/latéral chez le Primate), les projections du MO vers le striatum se rapprochant plus de celles du PL (Heilbronner et al 2016). Cependant, notons qu'une précédente étude a révélé un pattern de projections dans de nombreux cas similaire entre le MO et le VO, notamment vers d'autres régions préfrontales (Hoover & Vertes 2007, Hoover & Vertes 2011). Dans tous les cas, il est certain qu'au sein de l'OFC du Rat, une dissociation se dessine selon un gradient médo-latéral, du point de vue anatomique (Price 2007, Schilman et al 2008) et fonctionnel (Izquierdo 2017).

-Médian

Comme nous l'avons vu, il a été proposé que les régions du mPFC soient proches de celles du mPFC chez le Singe. Néanmoins, la comparaison directe a été rendue difficile par une incohérence dans la terminologie employée et la délimitation des aires du mPFC dans les études sur le Rongeur (Laubach et al 2018). Le PL et l'IL ont longtemps été considérés comme des aires dissociées du cortex 'cingulaire' antérieur qui était, lui, mentionné en tant que AC dorsal (Van Eden & Uylings 1985) ou Cg1 (Paxinos & Watson 2007). Par ailleurs, bien que le PL ait été souvent présenté comme une structure unique, des études ont révélé une dissociation anatomique entre le PL dorsal et le PL ventral (Berendse et al 1992, Gabbott et al 2005, Groenewegen et al 1997) ainsi qu'une dissociation fonctionnelle (Heidbreder & Groenewegen 2003). Les aires du mPFC chez le rongeur sont accolées en avant du corps calleux, notamment au niveau du genou. Chez le Singe, les aires avec une localisation similaire correspondent toutes à l'ACC comme décrit par Vogt (2009). Sur la base de l'étude de la cytoarchitecture, on peut identifier chez le Rongeur une aire 32 (A32) et une aire 24 (A24) (Vogt & Paxinos 2014). L'A32 se divise en une partie dorsale (A32d) correspondant au PL dorsal et le Cg1, et une partie ventrale (A32v) correspondant au PL ventral. L'A24, correspondant à l'étendue postérieure du Cg1 (Cg2) se divise en une partie dorsale (A24a) et une partie ventrale (A24b) au niveau de l'ACC (Vogt & Paxinos 2014). L'étude de la cytoarchitecture et de la distribution de certains récepteurs indiquent que les aires A32d, A32v et A24 sont anatomiquement homologues aux parties pré-génuales et sub-génuales de l'A32 et de l'A24 de l'ACC du Primate (Vogt et al 2013, Vogt & Paxinos 2014). A noter que l'homologie anatomique de l'A24 se prolonge également au niveau du cortex cingulaire médian (MCC), dans le prolongement postérieur à l'ACC (Vogt & Paxinos 2014). Par ailleurs, des similarités anatomiques ont également été trouvées concernant l'aire 25 (A25) des Rongeurs et du Primate (Alexander et al 2019, Heilbronner et al 2016). Enfin, Laubach et al (2018) indiquent que ces aires, chez le Rongeur, correspondent à l'emplacement des mêmes aires chez le Primate en prenant en compte l'incurvation du corps calleux chez ce dernier. A l'instar des travaux entrepris pour homogénéiser l'étude du PFC chez l'humain et le Primate non-humain (Petrides et al 2012), l'ensemble de ces études indiquent qu'un effort est entrepris dans ce sens avec le rongeur également (Heilbronner et al 2016, Laubach et al 2018, Vogt et al 2013, Vogt & Paxinos 2014). Notons que les travaux de B. Vogt en collaboration avec G. Paxinos ont été intégrés dans la dernière version de l'atlas stéréotaxique de Paxinos & Watson (2014)(Figure 4).

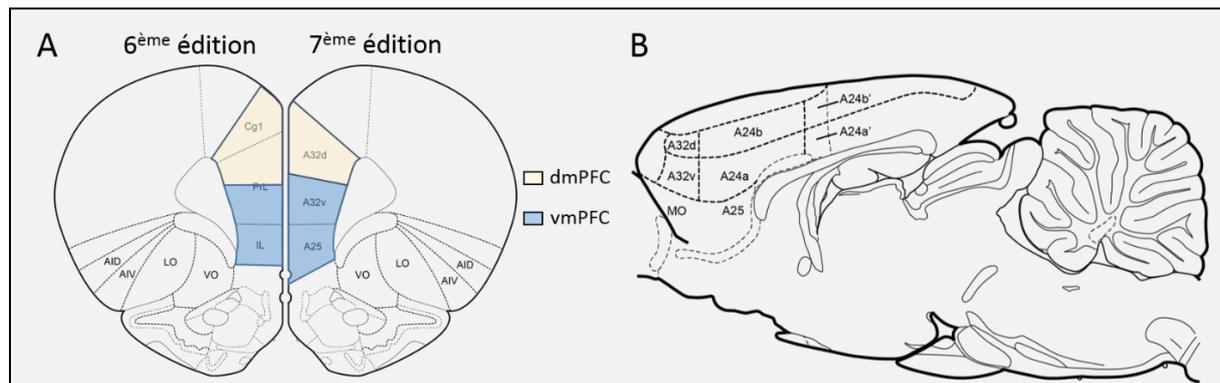


Figure 4. A. Régions préfrontales telles que nommées et délimitées dans la sixième édition (2008, gauche) et la septième édition (2014, droite) de l'atlas de Paxinos & Watson. B. Représentation d'une coupe sagittale du cerveau de rat. Adaptée de Paxinos & Watson (2014).

Il est évident que la majorité des études chez le Rongeur a utilisé la terminologie PL/IL, il est donc difficile de s'en affranchir totalement. Néanmoins, afin de prendre en compte les nouvelles données concernant l'A32 mais également de données plus anciennes concernant la distinction dorso-ventrale du mPFC, nous employons des termes génériques tels que le PFC dorsomédian (dmPFC) désignant globalement le Cg1 et le PL dorsal, ainsi que le terme PFC ventromédian (vmPFC) englobant le PL ventral et l'IL.

-Latéral

Le cortex insulaire est une longue structure latérale s'étendant le long de la fissure rhinale chez le Rongeur, se subdivisant en trois parties distinctes dans leur cytoarchitecture. On distingue une partie agrulaire, une partie dysgranulaire et une partie granulaire. Ces différentes parties sont organisées selon l'axe antéro-postérieur et dorso-ventral (Gogolla 2017). Seule la partie agrulaire antérieure (AI) apparaissant au niveau préfrontal est incluse dans la délimitation du PFC du Rongeur (Uylings et al 2003, Van De Werd & Uylings 2008). Certains auteurs considèrent AI comme faisant partie de l'OFC et constituant, avec le LO, la partie latérale de l'OFC (Schoenbaum et al 2006). Les parties de l'AI sont envisagées comme correspondant aux parties agrulaires antérieures du cortex insulaire qui sont retrouvées au niveau caudal de l'OFC chez le Primate et faisant partie du réseau « orbital » (Price 2007). Néanmoins, une étude récente a montré une certaine hétérogénéité de la densité des afférences thalamiques et du BLA vers l'AI et des parties plus centrales de l'OFC incluant le LO (Murphy & Deutch 2018).

Connectivité

Cortico-corticale

Des études chez le Primate ont révélé l'importance des connexions de régions corticales (p. ex. temporales ou pariétales) avec l'ensemble des aires préfrontales, granulaires et agranulaires (Barbas & Pandya 1989, Petrides & Pandya 1984, Petrides & Pandya 1988). On considère que les aires préfrontales sont les régions corticales interagissant le plus avec d'autres régions corticales, préfrontales ou autres (Fuster 2015). Chez le Rat, les régions ventrales et dorsales du mPFC sont interconnectées entre elles et projettent également vers l'AI, avec une plus grande densité de la part du dmPFC (Vertes 2004). Différentes régions du cortex insulaire, notamment l'AI, projettent en retour vers ces régions (Gabbott et al 2003, Shi & Cassell 1998). Ces régions reçoivent et projettent également vers toutes les parties de l'OFC (Hoover & Vertes 2011, Murphy & Deutch 2018, Shi & Cassell 1998). Au-delà du PFC, les aires les plus dorsales du mPFC partagent des connexions plus importantes avec des régions corticales telles que les cortex moteur, somatosensoriel, pariétal ou visuel (Fillinger et al 2017, Fillinger et al 2018, Hoover & Vertes 2007). L'OFC reçoit des afférences corticales de toutes modalités sensorielles (Murphy & Deutch 2018, Ongur & Price 2000).

Autres structures

- Principales afférences (Figure 5)

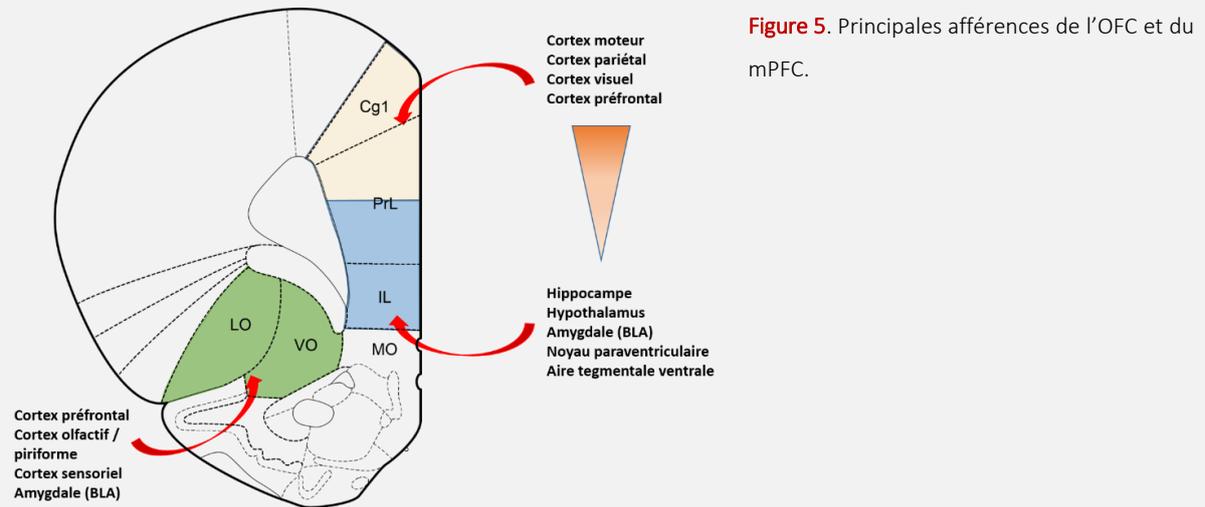
Le MD est une source majeure de projections vers le PFC. Il a été montré dans l'équipe que deux voies ségréguées issues du MD latéral et central innervent respectivement le dmPFC et le vmPFC, majoritairement dans la couche III (Alcaraz et al 2016). D'autres noyaux thalamiques médians innervent également le mPFC (Ahrlund-Richter et al 2019, Hoover & Vertes 2007). C'est notamment le cas du noyau paraventriculaire ou du noyau reuniens qui innervent préférentiellement le vmPFC (Berendse & Groenewegen 1991, Hoover & Vertes 2007). Une troisième voie issue du MD et d'autres noyaux (p. ex. submédian) innerve l'ensemble de l'OFC (Alcaraz et al 2016, Alcaraz et al 2015) plus densément que l'AI (Murphy & Deutch 2018).

Le PFC reçoit également des afférences de noyaux de l'amygdale. Le noyau basolatéral (BLA) projette préférentiellement dans le vmPFC et l'AI, dans les couches II et V (Bacon et al 1996), tandis que le noyau latéral projette davantage dans le LO, bien que ce dernier reçoive également des afférences de la BLA (Hoover & Vertes 2007, Murphy & Deutch 2018). Le noyau basomédian (BMA) projette préférentiellement dans le vmPFC (Petrovich et al 1996).

D'autres régions « limbiques » telles que des régions hippocampiques, particulièrement le CA1 ou le subiculum, notamment en position ventrale, projettent de manière plus importante dans le vmPFC

(Heidbreder & Groenewegen 2003, Hoover & Vertes 2007). L'hypothalamus innerve modérément l'ensemble du PFC, néanmoins une densité de projections plus importantes est observable dans le vmPFC (Hoover & Vertes 2007).

Notons que, globalement, les afférences corticales et sous-corticales du PFC innervent de façon homogène les neurones excitateurs et les différents types de neurones inhibiteurs (Ahlund-Richter et al 2019).



-Principales efférences (Figure 6)

De la même façon que le PFC reçoit des afférences du MD, celui-ci est innervé par les neurones de la couche VI de l'ensemble des régions du PFC, avec une forte densité de projections issues du dmPFC (Gabbott et al 2005).

Le vmPFC, le long de son axe antéro-postérieur, innerve bilatéralement plusieurs noyaux hypothalamiques (latéral, postérieur, supramillaire, paraventriculaire). Le MO et le VO innervent également l'hypothalamus postérieur et latéral (Heidbreder & Groenewegen 2003, Hoover & Vertes 2007). Les projections issues du dmPFC et de régions plus latérales de l'OFC sont moins importantes et plus restreintes vers le noyau vers l'hypothalamus postérieur (Floyd et al 2001, Vertes 2004). Le vmPFC projette également de manière bilatérale et plus diffuse vers les noyaux de l'amygdale (médian, central, latéral), ainsi que sur les cellules intercalaires (Li et al 2011). Plus les projections sont issues de régions dorsales du mPFC et plus elles sont confinées à la BLA (Heidbreder & Groenewegen 2003, Vertes 2004). A l'instar des afférences de la BLA, les projections vers celle-ci sont issues des couches II et V du PFC (Gabbott et al 2005).

Les projections vers le striatum s'organisent selon un gradient dorso-ventral. Le dmPFC projette majoritairement vers le striatum dorsal tandis que le vmPFC projette majoritairement vers le striatum ventral, ou noyau accumbens (Nacc)(Fillinger et al 2018, Gabbott et al 2005). Ces neurones sont

localisés en majorité dans la couche V mais également dans les couches II et III (Gabbott et al 2005). Le vmPFC innerve préférentiellement le Nacc coquille tandis que le dmPFC innerve majoritairement le Nacc coeur (Brog et al 1993). Au sein de l'OFC, un gradient médio-latéral est observable. Les régions médianes innervent le striatum médian et les régions latérales innervent le striatum latéral (Schilman et al 2008), néanmoins des données montrent également des projections du LO vers le DMS (Gremel et al 2016). Le MO projette davantage que le VO et de manière homogène sur le Nacc coquille et coeur (Hoover & Vertes 2011). L'AI projette préférentiellement vers le Nacc coeur (Brog et al 1993).

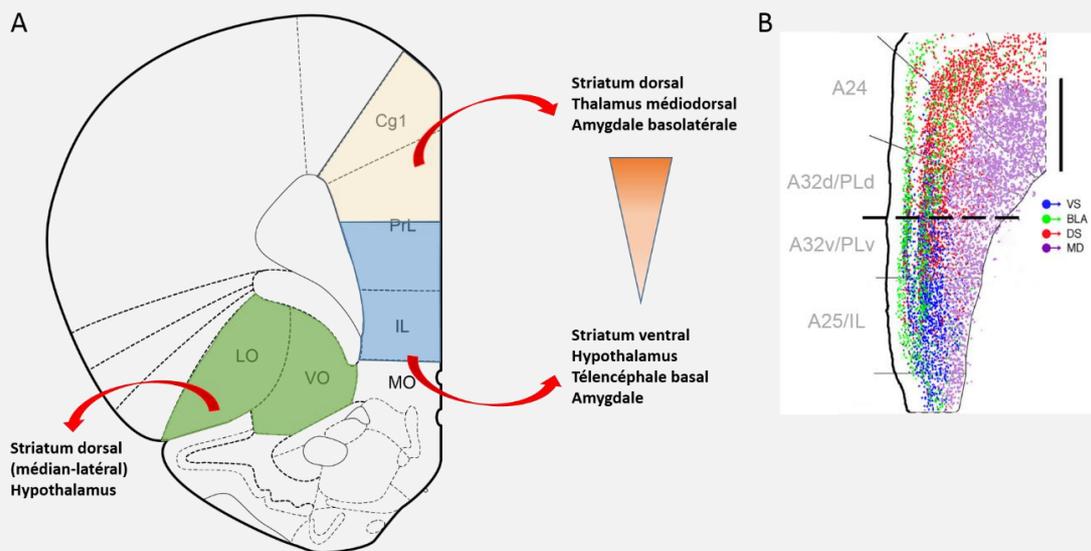


Figure 6. A. Principales efférences de l'OFC et du mPFC. B. Représentation schématique de la distribution laminaire des projections du mPFC vers le striatum ventral (VS), l'amygdale basolatérale (BLA), le striatum dorsal (DS), le thalamus médiodorsal (MD). Adaptée de Gabbott et al (2005) et de Vogt & Paxinos (2014).

L'ensemble des données concernant les connexions du PFC avec les structures sous-corticales montrent une remarquable topographie des projections du PFC vers le striatum où elles forment un gradient dorsolatéro-ventromédian (Voorn et al 2004) relativement bien conservé à travers les espèces (Heilbronner et al 2016). De la même façon, les afférences issues du thalamus et de l'amygdale sont topographiquement organisées (Berendse & Groenewegen 1991, Groenewegen et al 1997) et forment ainsi des boucles intégrant les aires corticales et sous-corticales (Groenewegen et al 1999).

De tels circuits, mettant en jeu différentes aires préfrontales/corticales, ont également été décrits chez le Primate (Alexander et al 1986, Middleton & Strick 2000). Ces circuits en interaction pourraient permettre d'intégrer diverses informations utiles aux processus cognitifs (Haber 2017).

Systèmes de neuromodulation

-Sérotonine (5-HT)

Dans le cortex, les neurones 5-HT proviennent majoritairement du noyau du raphé dorsal (DR). Celui-ci innerve l'ensemble des régions de l'OFC et du mPFC (Hoover & Vertes 2007, Murphy & Deutch 2018). Néanmoins, une plus grande densité de fibres 5-HT est observable au niveau des couches I et V-VI (Linley et al 2013). Dans le PFC, les afférences issues du DR projettent de manière non-divergente vers les différentes régions préfrontales (Chandler et al 2013). Les différentes aires préfrontales projettent en retour vers différentes parties du DR (Hoover & Vertes 2011, Peyron et al 1998, Vertes 2004).

-Acétylcholine (Ach)

Une partie de l'Ach dans le cerveau provient de noyaux cholinergiques du télencéphale basal, tels que le septum, la substance innominata (SI), le noyau de la bande diagonale (NDB) ou encore le noyau basal magnocellulaire (MA). Des projections issues de la plupart de ces noyaux sont présentes dans l'ensemble des régions préfrontales (Chandler et al 2013, Hoover & Vertes 2007). Les neurones cholinergiques issus du NDB et du MA projettent préférentiellement sur des interneurons exprimant le peptide intestinale vasoactif (VIP, Ahrlund-Richter et al 2019). Chandler et al (2013) ont étudié les projections provenant du MA et ont montré que contrairement aux neurones 5-HT, une majorité de neurones divergent pour innover l'ensemble des régions préfrontales. Dans le cortex, les couches I-III et V sont les plus innervées par les fibres cholinergiques (Eckenstein et al 1988). En retour, les neurones du vmPFC innervent majoritairement le septum, SI, et NDB. Le MO projette majoritairement vers le septum et SI (Hoover & Vertes 2011, Vertes 2004).

-Dopamine (DA)

Les aires préfrontales sont majoritairement innervées par la voie mésocorticale issue de l'aire tegmentale ventrale (VTA)(Beier et al 2015, Bjorklund & Dunnett 2007). A l'exception du MO, l'OFC n'est que peu innervé par les fibres dopaminergiques (Descarries et al 1987, Murphy & Deutch 2018). En revanche, l'innervation dopaminergique de l'AI et du mPFC est plus dense (Van Eden et al 1987). La voie mésocorticale innervant le mPFC possède des propriétés physiologiques qui la distinguent d'autres voies dopaminergiques (Lammel et al 2008). Elle suit un gradient dorso-ventral dans lequel les régions les plus dorsales sont moins innervées que les régions plus ventrales (Naneix et al 2012). Dans les régions dorsales, les couches superficielles I et II sont peu denses en fibres DA en comparaison aux fibres profondes V et VI. Dans les régions les plus innervées, une nette augmentation de l'innervation des couches superficielles est observable tandis que l'innervation des

couches profondes reste équivalente (Van Eden et al 1987). Les neurones provenant de la VTA et innervant le PFC ne divergent pas vers plusieurs régions préfrontales (Chandler et al 2013). La VTA mais également la substance noire (*pars compacta*) reçoivent des projections de l'ensemble des aires du PFC (Fillinger et al 2018, Hoover & Vertes 2011, Vertes 2004).

-Noradrénaline (NA)

L'innervation noradrénergique du PFC sera présentée plus en détail dans le chapitre I.

Notons néanmoins que l'ensemble des aires préfrontales est densément innervé par les neurones noradrénergiques issus du Locus Coeruleus (LC), au niveau de toutes les couches mais de manière plus importante dans la couche superficielle I (Agster et al 2013, Audet et al 1988, Morrison et al 1979b). L'innervation des différentes régions préfrontales est majoritairement non divergente (Chandler et al 2013, Uematsu et al 2017). Une stimulation du mPFC est capable de modifier l'activité des neurones du LC suggérant une possible connexion réciproque entre les deux (Jodo et al 1998). De fait, des projections de régions du mPFC vers le LC ont été observées (Fillinger et al 2018, Sesack et al 1989, Vertes 2004). Ces projections n'atteignent probablement pas directement le cœur du LC mais une région dendritique périphérique (Aston Jones 2004). Une étude récente suggère que ces neurones projettent préférentiellement vers des neurones GABAergiques au sein de cette région périphérique (Breton-Provencher & Sur 2019). En revanche, il n'est pas évident que l'OFC innerve le LC, des données contradictoires ayant été obtenues chez le Singe (Arnsten & Goldman-Rakic 1984, Aston-Jones & Cohen 2005). Chez le Rat, ni le MO ni le VO ne semblent projeter vers le LC (Hoover & Vertes 2011).

1.2 Régions sous-corticales

a) Striatum

Des lésions pré-entraînement de la partie postérieure du striatum dorsomédian (pDMS) altèrent les réponses dirigées vers un but (Corbit & Janak 2010). Les données actuelles suggèrent que le pDMS est impliqué de manière permanente. En effet, l'altération de l'activité des récepteurs NMDA du pDMS (Yin et al 2005a) ou de l'activité de la voie MAPK/ERK (Shiflett et al 2010) durant l'encodage perturbe l'action dirigée. De plus, l'inactivation pharmacologique du pDMS durant le test altère également la réponse (Yin et al 2005b), attestant de son rôle permanent.

Dans sa conception actuelle, il apparaît qu'un circuit dmPFC-pDMS soit requis de manière transitoire pour l'encodage des associations A-O, ainsi qu'un ensemble de travaux récents du groupe de Balleine l'a démontré (Hart et al (2018a). Ces travaux ont montré en particulier d'importants changements d'activité de la voie MAPK/ERK au sein de population de neurones du dmPFC projetant spécifiquement sur le pDMS, ces modifications sont requises pour l'encodage des associations A-O (Hart & Balleine 2016). En considérant les systèmes anatomiques (Levesque & Parent 1998, Nakayama et al 2018), il s'avère que deux types de neurones du dmPFC projettent vers le pDMS : les neurones de la voie pyramidale (*pyramidal tract*, PT) se projetant de manière ipsilatérale sur le pDMS et les neurones intratélencéphaliques (IT) se projetant de manière bilatérale sur le pDMS *via* le corps calleux. En utilisant des approches intersectionnelles par ciblage de voies, Hart et al (2018b) ont démontré que des interactions bilatérales par l'intermédiaire des neurones IT étaient nécessaires à l'encodage des associations instrumentales. Le rôle des interactions ipsilatérales par l'intermédiaire des neurones PT est encore à démontrer mais pourraient être nécessaire pour la préparation de l'action (Figure 17).

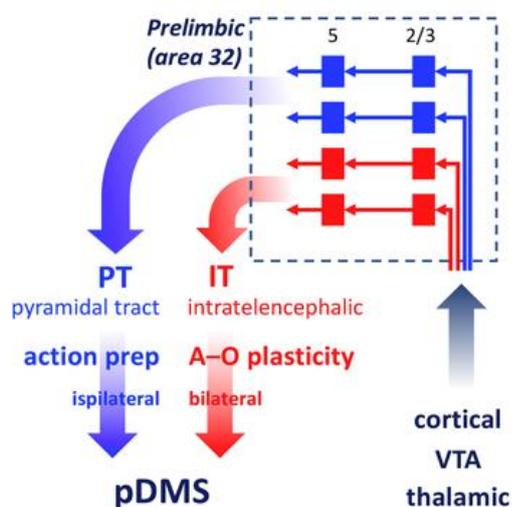


Figure 17. Les neurones de la couche V (5) du dmPFC (PL) projettent vers le pDMS *via* la voie pyramidale et intratélencéphaliques. Ces projections sont intégrées dans un circuit incluant des projections provenant de structures corticales et sous-corticales au niveau des couches intermédiaires (2/3). Tirée de Balleine (2019).

L'intégration de l'apprentissage au sein du pDMS se fait probablement par l'interaction entre les projections corticales et les neurones épineux moyens de la voie directe et indirecte. En effet, le conditionnement instrumental provoque au sein de ces neurones des phénomènes de plasticité synaptique (Shan et al 2014). Outre la partie dorsale, des lésions du striatum ventral et plus particulièrement du Nacc cœur altèrent la réponse lors d'un test de dévaluation (Corbit et al 2001, mais voir de Borchgrave et al 2002).

b) Thalamus

Thalamus médiodorsal

Une lésion pré-entraînement du noyau médiodorsal du thalamus (MD) induit un déficit de l'action dirigée (Corbit et al 2003) tandis qu'une lésion post-entraînement n'a aucun effet sur celle-ci (Ostlund & Balleine 2008). De plus, à l'instar du dmPFC, l'inhibition du MD rend la réponse insensible à la dégradation de contingence (Parnaudeau et al 2015). Sur la base de ces résultats, il n'est pas surprenant que le MD puisse être en étroite relation avec le dmPFC pour l'établissement d'une action dirigée. Cela a été démontré dans une étude récente de l'équipe (Alcaraz et al 2018), qui a utilisé une stratégie de double vecteur viral afin d'inhiber spécifiquement les projections entre le MD et le dmPFC (Figure 18).

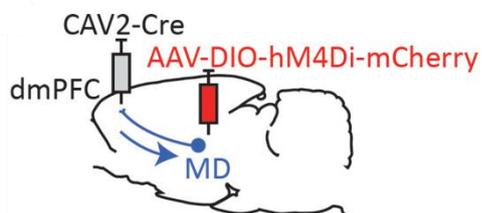


Figure 18. Un vecteur viral contenant un DREADD inhibiteur (hM4Di), et dont l'expression est cre-dépendante, est injecté dans le MD. La cre-recombinase est apporté par l'injection d'un vecteur viral rétrograde CAV2 dans le dmPFC. Ainsi, seuls les neurones projetant du MD vers le dmPFC exprimeront le DREADD et seront inhibés par son activation. Tirée de Alcaraz et al (2018)

Cette stratégie a montré que l'inhibition spécifique de la voie thalamo-corticale (MD>dmPFC) rend la réponse de l'animal insensible à la dévaluation et à la dégradation de contingence. Cependant, la même stratégie appliquée à la voie cortico-thalamique (dmPFC>MD) induit un déficit uniquement dans une tâche de dévaluation. Ces résultats soulignent l'importance de l'étage thalamique mais également l'hétérogénéité fonctionnelle des voies bidirectionnelles entre le MD et le dmPFC.

Le MD apparaît donc comme un acteur crucial pour l'action dirigée en interagissant directement avec le dmPFC

Thalamus parafasciculaire

La lésion du thalamus parafasciculaire (Pf) empêche les animaux d'adapter leur réponse à une dégradation de contingence (Bradfield et al 2013). Cette fonction semble être spécifique des projections du Pf vers le pDMS puisque leur déconnexion fonctionnelle produit le même résultat (Bradfield & Balleine 2017, Bradfield et al 2013).

1.3 Régions temporales

a) Amygdale

Des lésions pré-encodage de la partie basolatérale de l'amygdale (BLA) induisent des déficits de réponse dirigée vers un but (Balleine et al 2003, Corbit & Balleine 2005). De plus, une perturbation de l'activité du récepteur NMDA restreinte à la phase d'encodage rend également la réponse instrumentale insensible à la dévaluation (Parkes et al 2016a). Il n'est alors pas surprenant qu'une activité glutamatergique transitoire puisse être détectée dans la BLA de manière corrélée aux appuis sur un levier durant la phase d'encodage (Wassum et al 2012). Des données supplémentaires suggèrent que la BLA permet notamment d'intégrer des caractéristiques sensorielles de la récompense permettant de guider l'action (Balleine et al 2003, Blundell et al 2001).

Du point de vue des interactions fonctionnelles entre les structures impliquées dans l'encodage, il est intéressant de noter qu'une procédure de déconnexion fonctionnelle (avant la phase d'encodage) entre la BLA et le pDMS rend la réponse insensible à la dévaluation (Corbit et al 2013). Cependant, une déconnexion entre la BLA et le dmPFC n'a aucun effet sur l'action dirigée (Coutureau et al 2009).

Outre son rôle durant la phase d'encodage, la BLA est également importante lors de l'étape d'évaluation. En effet, la lésion post-encodage altère également l'action dirigée (Ostlund & Balleine 2008), indiquant que la BLA intervient également après l'encodage. Ultérieurement, Parkes & Balleine (2013) ont montré que l'infusion d'ifenprodil (antagoniste des récepteurs NMDA) dans la BLA avant la dévaluation altère la réponse de l'animal lors du test. En revanche, une même infusion avant le test n'a aucun effet, suggérant que la BLA joue un rôle critique lors de l'étape d'évaluation. De manière intéressante, le déficit induit par la perturbation de l'activité dans la BLA lors de la dévaluation n'était pas retrouvé lors d'un test de consommation au cours duquel l'animal a le choix entre la nourriture dévaluée et la nourriture non dévaluée. Ce résultat indique que la BLA n'est pas responsable de la détection de changements dans la valeur de la nourriture, c'est-à-dire sa palatabilité. En revanche, la BLA permet d'intégrer des changements de la valeur incitative lors de l'apprentissage incitatif (voir section Actions-

habitudes – 2). En accord avec ce rôle, Wassum et al (2009) a démontré que l'antagonisme de récepteurs opioïdes dans la BLA empêche la modification d'une réponse instrumentale par apprentissage incitatif sans altérer la détection du changement de palatabilité de la récompense (voir aussi Malvaez et al 2019).

Par ailleurs, sa déconnexion avec le Nacc cœur avant la phase d'encodage entraîne une perturbation lors du test (Corbit et al 2001, Shiflett & Balleine 2010). Sur la base des travaux précédents (Parkes & Balleine 2013), il est probable que l'interaction BLA-Nacc soit indirecte et passe par l'ICg. En effet, comme évoqué précédemment, une déconnexion similaire entre l'ICg et le Nacc cœur résulte en une réponse insensible à la dévaluation (Parkes et al 2015).

L'ensemble de ces résultats indiquent que la BLA est incorporée dans un circuit fonctionnel incluant l'ICg et le Nacc cœur. Ce circuit permet d'encoder des changements de la valeur incitative des récompenses et d'utiliser cette valeur afin de guider l'action de l'animal.

b) Cortex entorhinal

Avant de s'intéresser au cortex entorhinal, Corbit & Balleine (2000) ont observé que la lésion de l'hippocampe dorsal n'avait aucun effet dans une tâche de dévaluation mais qu'en revanche elle provoquait un déficit dans une tâche de dégradation de contingence. Cependant, cette lésion était réalisée par une méthode électrolytique connue pour endommager également les fibres de passage. Corbit et al (2002) ont donc cherché à répliquer ce résultat avec une lésion neurotoxique (NMDA) mais n'ont obtenu aucun effet, suggérant donc que l'effet obtenu avec la lésion électrolytique était due à l'endommagement de fibres de passage issues d'une autre structure. Le rétrohippocampe (cortex entorhinal et subiculum) constituait le candidat idéal puisque ses neurones projettent massivement à travers l'hippocampe. Effectivement, en réalisant une lésion du rétrohippocampe, Corbit et al (2002) ont répliqué le déficit dans la tâche de dégradation instrumentale. De plus, par une procédure de déconnexion, les auteurs ont démontré que la structure impliquée était bien le cortex entorhinal et non le subiculum.

L'ensemble de ces données montre l'implication de différentes structures corticales et sous-corticales dans les différents processus nécessaires à l'action dirigée (Figure 19).

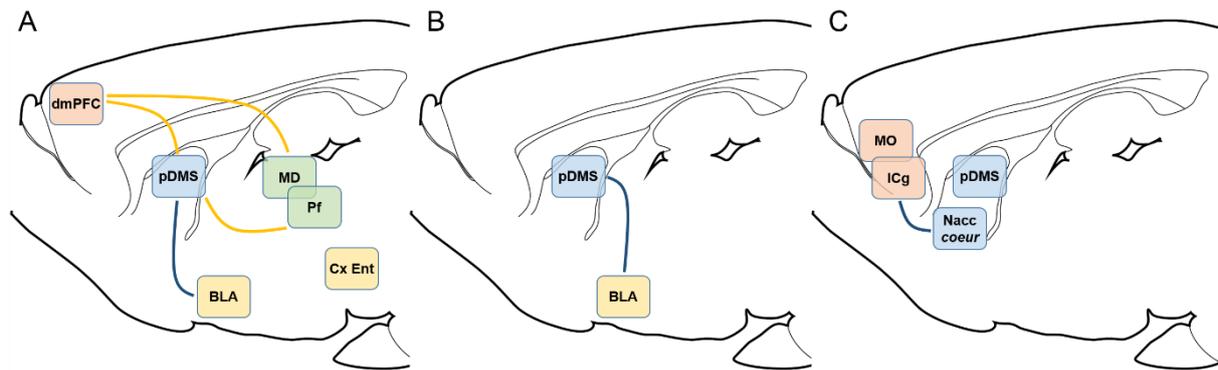


Figure 19. Schéma récapitulant les structures impliquées dans l'encodage (A), l'évaluation (B) et l'expression de l'action dirigée (C). Les régions corticales sont représentées couleur saumon, les régions striatales en bleu, les régions temporales en jaune et les régions thalamiques en vert. Les traits de connexions jaunes représentent les projections directes dont le rôle a été établi par la manipulation spécifique de ces voies. Les connexions bleues correspondent à des interactions fonctionnelles se basant sur des méthodes de déconnexions (lésionnelles ou pharmacologiques).

2) Circuits des habitudes

Nous l'avons vu, les modes de contrôles dirigé et habituel semblent fonctionner en parallèle, les conditions de l'environnement conduisant l'un ou l'autre à s'exprimer. Un tel fonctionnement nécessite probablement que les habitudes soient sous-tendues par des circuits cérébraux parallèles à ceux de l'action dirigée (Figure 20).

2.1 Régions corticales

Une lésion ou une inactivation du PFC ventromédian (vmPFC ou infralimbique) restaure une réponse dirigée chez des animaux ayant reçu un entraînement intensif et dont la réponse est normalement sous le contrôle du système « habitudes » (Coutureau & Killcross 2003, Killcross & Coutureau 2003). Cette capacité est sous l'influence de l'activité dopaminergique (Hitchcott et al 2007) *via* les récepteurs D2 (Barker et al 2013). La dissociation fonctionnelle entre le dmPFC et le vmPFC est également suggérée par des données électrophysiologiques montrant des profils de réponse différents entre les neurones du dmPFC et du vmPFC lors d'une tâche instrumentale. Bien que les neurones de ces deux structures répondent spécifiquement suite à l'appui sur un levier récompensé, les neurones du dmPFC répondent très rapidement et de manière transitoire tandis que les neurones du vmPFC répondent de manière différée et prolongée (Burgos-Robles et al 2013). L'activité des neurones du vmPFC semble être plus spécifiquement liée à la récompense en elle-même. Cette modulation de l'activité des neurones du

vmPFC semble disparaître lorsque les animaux répondent de manière habituelle suggérant une perte d'information quant à la conséquence des actions (Barker et al 2017).

2.2 Striatum dorsal

Une hétérogénéité fonctionnelle semblable est retrouvée au sein du striatum dorsal. Nous avons vu l'importance du pDMS dans l'encodage et l'expression d'une action dirigée typique d'un contrôle A-O (Yin et al 2005a). À l'inverse, et à l'instar du vmPFC, des lésions pré-encodage de la partie latérale du striatum dorsal (DLS) n'ont aucun effet sur l'action dirigée (Corbit & Janak 2010). Là encore, lorsque les conditions d'entraînement induisent normalement une réponse habituelle, la lésion préalable du DLS ne permet pas l'expression de celle-ci, ainsi la réponse est toujours sensible à une dévaluation. Il est probable que cette capacité résulte de l'activité dopaminergique issue de la substance noire (Faure et al 2005). Par ailleurs, l'inactivation du DLS restaure la sensibilité à une dégradation de contingence lorsque la réponse est censée être sous le contrôle S-R et donc insensible à ce traitement (Yin et al 2006, Zimmermann et al 2018).

2.3 Régions temporales

Amygdale

Dans l'amygdale également, l'action dirigée et les habitudes semblent impliquer différentes régions. Dans l'étude de Lingawi & Balleine (2012), une lésion du noyau central de l'amygdale (CeA) antérieur induit un contrôle dirigé chez des animaux exprimant normalement une réponse habituelle. La lésion du CeA postérieur n'a, elle, aucun effet. De plus, le même résultat est retrouvé avec une déconnexion fonctionnelle entre le CeA et le DLS. À ce jour, l'interaction fonctionnelle avec le vmPFC n'a pas été étudiée. Néanmoins, ce dernier projette vers les neurones intercalaires de l'amygdale connus pour moduler l'activité du CeA suggérant un possible mécanisme pour le contrôle des habitudes (Li et al 2011).

Hippocampe ventral

Dans une étude récente (Barker et al 2019), les rats étaient rendus insensibles à une dégradation de contingence par l'utilisation d'un programme de renforcement favorisant l'apparition d'une réponse habituelle. L'inhibition de l'hippocampe ventral lors de la dégradation de contingence restaure une sensibilité à la dégradation (*i.e.* les rats diminuent leurs appuis sur le levier dégradé). De la même façon, l'inhibition spécifique des projections de l'hippocampe ventral vers le Nacc coquille (*shell*) restaure cette

sensibilité. Ces résultats suggèrent donc un rôle de l'hippocampe ventral dans les habitudes, médié par ses projections vers le Nacc coquille.

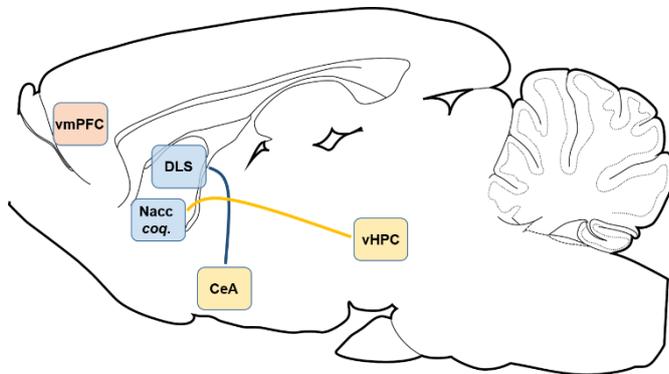


Figure 20. Schéma récapitulatif des structures impliquées dans les habitudes.

3) Circuit de la flexibilité de l'action dirigée

3.1 Circuit thalamo-striatal

Les travaux de Bradfield (Bradfield & Balleine 2017, Bradfield et al 2013) ont révélé le rôle du pDMS dans la flexibilité de l'action dirigée et notamment d'une voie afférente provenant du noyau parafasciculaire du thalamus. En effet, la déconnexion fonctionnelle entre le Pf et le pDMS n'impacte pas l'action dirigée lors de phase initiale. En revanche, elle empêche l'animal de répondre de manière adéquate lors d'un test après que les associations aient été inversées. De plus, les auteurs ont montré que cet effet était dû à une altération spécifique de l'activité des interneurons cholinergiques (CINs) spécifiquement innervés par le Pf, suggérant ainsi un mécanisme neuronal nécessaire à l'intégration sans interférence de deux apprentissages successifs.

3.2 Cortex orbitofrontal ventral/latéral (vOFC)

L'absence d'effet de lésions du vOFC sur l'action dirigée (Gourley et al 2013, Ostlund & Balleine 2007, Panayi & Killcross 2018) a généré des hypothèses fortes sur son rôle exclusif dans les processus de prédiction dans des tâches Pavloviennes (Ostlund & Balleine 2007, Pickens et al 2003). Néanmoins, dans des conditions particulières impliquant l'entraînement dans des contextes différents et en utilisant des programmes de renforcement différents, certaines études ont mis en évidence un déficit important après altération du fonctionnement du vOFC (Gremel & Costa 2013a) compatible avec une altération des capacités de mise à jour des conséquences de l'action.

Une étude récente à laquelle j'ai contribué lors de mon arrivée dans l'équipe DECAD a consisté à tester directement le rôle du vOFC dans la flexibilité de la réponse dirigée (voir Boîte 3 – Article Parkes et al., 2018). Dans leur ensemble, les données de cette étude i) confirment les données lésionnelles initiales (Gourley et al 2013, Ostlund & Balleine 2007, Panayi & Killcross 2018) ii) démontrent que le vOFC est requis lorsque le sujet doit mettre à jour les associations A-O. Depuis, d'autres études ont confirmé ces résultats et ont suggéré que la mise à jour dépend de phénomènes d'élagage synaptique (Whyte et al 2019) et d'interactions fonctionnelles entre le vOFC et le noyau submédian du thalamus (Fresno et al 2019).

Insular and Ventrolateral Orbitofrontal Cortices Differentially Contribute to Goal-Directed Behavior in Rodents

Shauna L. Parkes^{1,2,3}, Pascal M. Ravassard^{1,3}, Juan-Carlos Cerpa^{1,3}, Mathieu Wolff^{1,3}, Guillaume Ferreira^{2,3} and Etienne Coutureau^{1,3}

Dans cette étude, les rats étaient préalablement opérés afin d’injecter un DREADD inhibiteur dans le vIOFC. La structure était inhibée par injection systémique de CNO à des moments précis de l’apprentissage. La phase *reversal* correspondait à l’inversion de l’identité des récompenses.

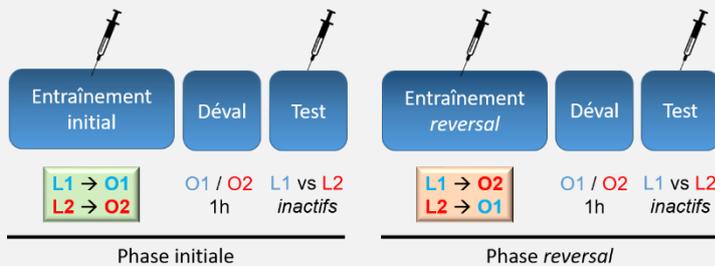


Figure 1. Protocole utilisée par Parkes et al (2018).

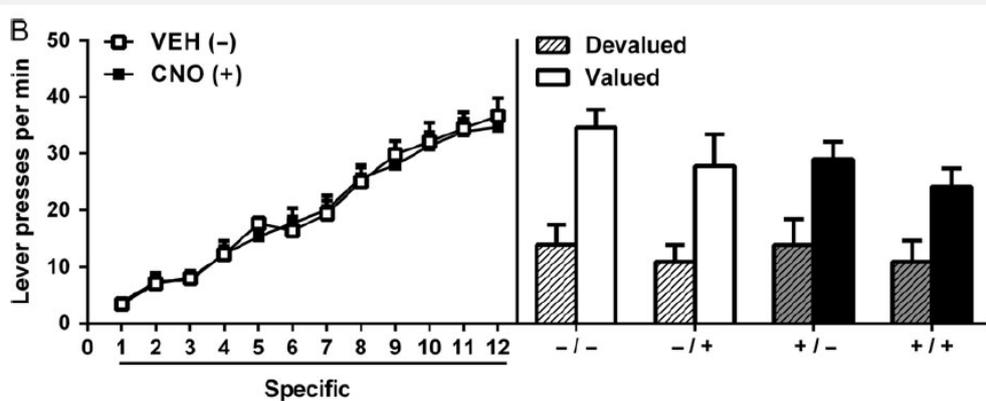


Figure 2. Résultats de la phase initiale. La performance instrumentale (à gauche) est identique entre les deux groupes. Lors du test de choix en extinction (à droite), les rats contrôles (-/-) répondent davantage sur le levier associé à la récompense non dévaluée. L’inhibition du vIOFC durant le test (-/+), durant l’entraînement (+/-) ou les deux (+/+) ne perturbe pas l’action dirigée puisque tous les animaux répondent également plus sur le levier associé à la récompense non dévaluée.

Les résultats de la phase initiale montrent, qu’à l’instar des études lésionnelles, l’inhibition du vIOFC n’a aucun effet sur l’action dirigée lors du test (Figure 2). Lors de la phase *d’inversion*, afin de provoquer chez ces animaux une nécessaire mise à jour de leur connaissance, les associations

instrumentales ont été inversées. Suite à cela, un protocole de dévaluation instrumentale a été similairement appliqué (Figure 3).

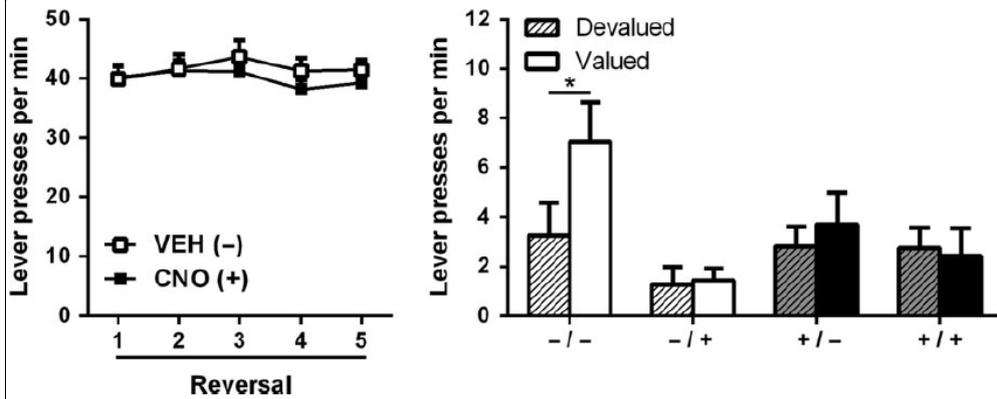


Figure 3. Résultats de la phase d'inversion. Les rats ont été de nouveau entraînés avec les associations instrumentales inverses pendant cinq jours. La performance instrumentale (à gauche) est identique entre les deux groupes. Lors du test de choix en extinction (à droite), les rats contrôles (-/-) répondent davantage sur le levier associé à la récompense non dévaluée. L'inhibition du vOFC durant le test (-/+), durant l'entraînement (+/-) ou les deux (+/+) induit un patron de réponses équivalent sur les deux leviers.

L'inhibition du vOFC n'impacte pas la performance instrumentale observable lors de l'entraînement, en revanche elle impacte bien ce que l'animal encode durant l'inversion ainsi que sa capacité à utiliser ce qu'il a appris pour guider son comportement lors du test.

III) Noradrénaline

1) Généralités

1.1 Synthèse

La noradrénaline (NA) est une catécholamine, de même que la dopamine et l'adrénaline. La synthèse de la NA (Figure 21) débute par la capture de l'acide aminé L-tyrosine (Blaschko 1957). Cet acide aminé est converti en L-DOPA sous l'action de l'enzyme tyrosine hydroxylase (TH). Le produit de la réaction, la DOPA, est ensuite converti en dopamine (DA) via l'enzyme DOPA décarboxylase. La DA cytosolique est transportée au sein de vésicules via le transporteur vésiculaire de monoamine de type 2 (VMAT). C'est au sein de ces vésicules que l'enzyme dopamine- β -hydroxylase (D β H) catalyse la conversion de la DA en NA. La NA contenue dans ces vésicules est libérée en dehors de la cellule par exocytose (Chiti & Teschemacher 2007, Sudhof & Rizo 2011). Une fois dans le compartiment extracellulaire, la NA agit sur différents récepteurs adrénergiques (voir plus bas). Néanmoins, la grande majorité de la NA est recapturée par des transporteurs noradrénergiques (*Norepinephrine Transporter*, NET) situés sur la membrane de l'élément pré-synaptique et également au niveau de cellules gliales (Inazu et al 2003, Torres et al 2003, Verkhatsky & Nedergaard 2018). A noter qu'il existe également d'autres transporteurs comme l'*Organic Cation Transporter 3*, à faible affinité mais à grande capacité de transport (Gasser & Lowry 2018). Une fois recapturée, la NA peut être de nouveau transportée au sein de vésicules pour être libérée par exocytose ou être dégradée en métabolites inactifs par les enzymes cataboliques spécifiques des catécholamines (Monoamine Oxydase et Catechol-O-Méthyl-Transférase) (Nagatsu 2004)

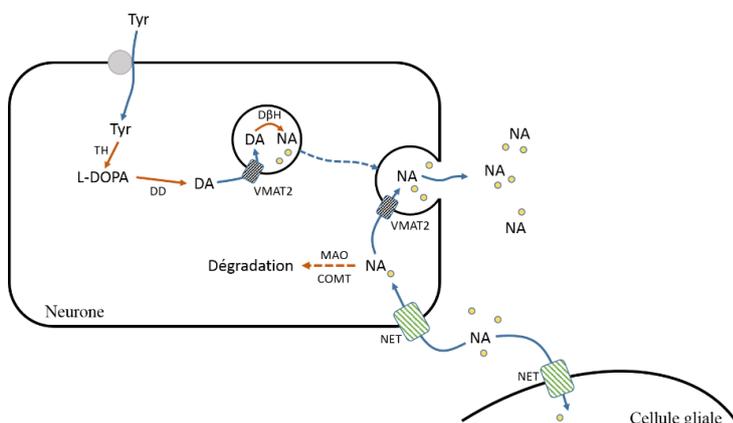


Figure 21. Représentation schématique de la voie de biosynthèse de la NA. Tyr : Tyrosine ; TH : Tyrosine Hydroxylase ; DD : Dopa Décarboxylase ; DA : Dopamine ; VMAT2 : transporteur vésiculaire de monoamines type 2 ; D β H : Dopamine- β -Hydroxylase ; NA : Nodradrénaline ; NET : Norepinephrine Transporter ; MAO : Monoamine Oxydase ; COMT : Catechol-O-Méthyl-Transférase

Les travaux concernant la transmission sympathique chimique ont donné lieu à l'identification de la NA comme agent de transmission, notamment grâce aux travaux de Von Euler (1951), en périphérie et dans le cerveau. Si ces travaux ont permis de localiser la NA dans le cerveau, c'est Vogt (1954) qui montra que la présence de NA dans le cerveau n'était pas simplement due à la transmission sympathique. Plus tard, grâce au développement d'une méthode histochimique de fluorescence permettant la détection de monoamines (incluant la NA), Dahlstrom and Fuxe (1964) ont décrit la localisation de différents groupes de neurones marqués dans le tronc cérébral, identifiés de A1-A7. Parmi ceux-là, le *Locus Cœruleus* (LC), correspondant à A6, est une structure découverte deux siècles plus tôt par Félix Vicq d'Azyr, neuroanatomiste français et père de l'anatomie comparée (Parent 2007, Tubbs et al 2011). Le LC constitue le principal noyau noradrénergique avec plus de 50% des neurones noradrénergiques. Il constitue également l'unique source de NA dans le cortex (Ungerstedt 1971) et sera le seul considéré dans cette thèse.

1.2 Anatomie

Le LC est localisé dans la portion antérieure de la région pontine dorsale, au niveau du plancher du quatrième ventricule. Il est constitué d'un petit nombre de neurones, environ 1500 chez le Rat et 10 à 15000 chez le Primate. Néanmoins, les projections du LC couvrent la quasi-totalité du cerveau et du tronc cérébral (Berridge & Waterhouse 2003).

Chez le Rat, deux types morphologiques ont été identifiés, des neurones multipolaires et des neurones fusiformes (Schwarz & Luo 2015, Swanson 1976). Leur distribution diffère au sein du LC, les neurones multipolaires étant majoritairement retrouvés ventralement et les neurones fusiformes en majorité au niveau dorsal du LC (Swanson 1976). Des types neuronaux se distinguent également par les neuropeptides co-exprimés avec la NA (Holets et al 1988, Olpe & Steinmann 1991). Parmi ceux-là, la galanine est la plus abondante, retrouvée dans environ 80% des neurones du LC. Cependant, ce pourcentage semble varier en fonction des sites de projection considérés (Simpson et al 1999). De plus, si l'on s'intéresse aux projections des neurones du LC, une certaine topographie semble se dessiner au sein du LC (Loughlin et al 1986a, Mason & Fibiger 1979, Schwarz & Luo 2015). D'autres études ont analysé l'hétérogénéité cellulaire en se basant sur l'expression génétique au cours du développement embryonnaire. Ces études ont révélé une hétérogénéité cellulaire entre le LC et d'autres noyaux noradrénergiques (Robertson et al 2013) mais également au sein du LC dans lequel deux groupes neuronaux se distinguent par la présence d'un marqueur génétique, *Pax7* (Plummer et al 2017). L'ensemble de ces données indique que la population de neurones constituant le LC n'est pas homogène

et diffère selon plusieurs critères pouvant suggérer une modulation différente des régions cibles du LC (Figure 22).

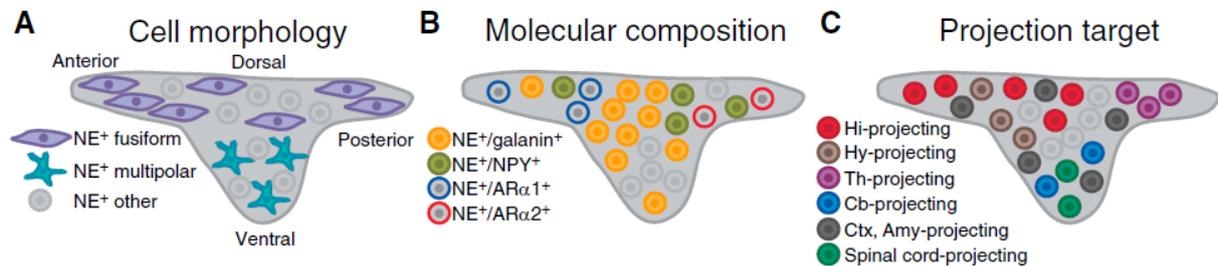


Figure 22. Hétérogénéité des neurones du LC selon leur **A.** morphologie, **B.** leur profil moléculaire et **C.** leurs projections. NE : Norepinephrine, NPY : Neuropeptide Y, ARα1 : Adrenergic Receptor α1, ARα2 : Adrenergic Receptor α2, Hi : Hippocampus, Hy : Hypothalamus, Th : Thalamus, Cb : Cerebellum, Ctx : Cortex. Tirée de Schwarz & Luo (2015)

Les fibres noradrénergiques présentent des renflements, appelés varicosités, qui sont le lieu de stockage et de libération de NA. Les études divergent sur la proportion de ces varicosités qui forment des contacts synaptiques classiques. En effet, certains auteurs indiquent que ces contacts sont majoritaires (Olschowka et al 1981, Papadopoulos & Parnavelas 1991), tandis que d’autres suggèrent que ce mode de transmission est au contraire minoritaire (Agster et al 2013, Miner et al 2003, Seguela et al 1990), donnant lieu ainsi à une transmission volumique plus diffuse (Agnati et al 1995, Descarries & Mechawar 2000). Si la proportion exacte n’est pas claire, il est fortement probable que la transmission noradrénergique se fasse selon les deux modes de transmission, classique et volumique.

a) Efférences

Les projections issues du LC sont regroupées en trois voies distinctes, la voie cérébelleuse, la voie descendante et la voie ascendante (Szabadi 2013) (Figure 23).

-La voie cérébelleuse constitue l’unique source de NA dans le cervelet, elle innerve les noyaux mais surtout le cortex cérébelleux (Olson & Fuxe 1971). La majorité des fibres noradrénergiques va contacter l’arborisation dendritique des cellules de Purkinje (Bloom et al 1971, Bloom et al 1972).

-La voie descendante projette vers des noyaux autonomiques, tels que les noyaux pré moteurs sympathiques et pré ganglioniques parasympathiques, des noyaux moteurs tels que les noyaux facial et oculomoteur, ainsi que des noyaux sensoriels du tronc cérébral, parmi lesquels le noyau du raphé dorsal renfermant des neurones sérotoninergiques. Elle projette également vers la moelle épinière et notamment au niveau de la corne dorsale (Bruinstroop et al 2012, Hirschberg et al 2017).

-La voie ascendante innerve globalement l'ensemble du cerveau antérieur et du mésencéphale (Szabadi 2013).

Structures corticales

Le LC projette vers l'ensemble des aires du néocortex (Agster et al 2013, Kebschull et al 2016, Morrison et al 1979a, Seguela et al 1990), parmi lesquelles, le cortex préfrontal, les cortex moteurs et également les aires corticales de toutes les modalités sensorielles (somatosensorielles, visuelles, auditives). Le LC innerve également ce que l'on nomme le cortex olfactif primaire comprenant le bulbe olfactif, le cortex piriforme, le cortex périamygdalien ainsi que le cortex entorhinal latéral (Aston Jones 2004). Une étude récente a montré que la densité de varicosités noradrénergiques est plus importante dans le cortex préfrontal que dans toutes les autres régions corticales (Agster et al 2013).

Structures sous-corticales

Le LC projette également vers l'amygdale, principalement le CeA et la BLA (Fallon et al 1978, Uematsu et al 2017), ainsi que vers l'hippocampe (Kempadoo et al 2016, Loughlin et al 1986b).

Le cas de l'innervation noradrénergique du striatum est particulier. Le Nacc coquille reçoit des fibres noradrénergiques (Berridge et al 1997), néanmoins ces fibres semblent être issues en majorité d'autres noyaux noradrénergiques (Delfs et al 1998). Le striatum dorsal a longtemps été considéré comme totalement dépourvu d'afférences du LC mais des données récentes suggèrent toutefois une faible innervation (Zerbi et al 2019). Une importante innervation noradrénergique issue du LC est également retrouvée dans divers noyaux thalamiques (Lindvall et al 1974, Simpson et al 1997), notamment au niveau antérieur et ventral, ainsi que les noyaux postérieurs tels que les noyaux géniculés et le noyau pulvinar. Les noyaux de la ligne médiane reçoivent une innervation moins importante, à l'exclusion du noyau paraventriculaire dont l'innervation est dense. Le noyau réticulaire reçoit également une innervation importante.

Le LC innerve aussi les noyaux du télencéphale basal dans lesquels des neurones de projections cholinergiques et GABAergiques sont retrouvés (Berridge et al 2003, Espana & Berridge 2006, Manns et al 2003). Bien que la majorité de l'innervation noradrénergique dans l'hypothalamus soit issue d'autres noyaux noradrénergiques, le LC projette également vers des noyaux de cette structure, notamment le noyau latéral (Baldo et al 2003, Loughlin et al 1986b).

Mésencéphale

Les neurones du LC projettent vers des structures mésencéphaliques telles que la substance grise périaqueducule (PAG), les colliculi supérieurs et inférieurs (Fritschy & Grzanna 1990) ainsi que vers l'aire tegmentale ventrale (VTA) et la substance noire (Mejias-Aponte et al 2009).

Plusieurs études ont montré que les neurones du LC peuvent envoyer des collatérales vers plusieurs régions cérébrales, au sein du cortex mais également entre des régions corticales et sous-corticales (Ader et al 1980, Room et al 1981). Ces neurones représentent néanmoins, à chaque fois, une faible proportion. En étudiant les collatérales au sein de circuits somatosensoriels, une autre étude a montré que les neurones envoient préférentiellement des collatérales vers des aires du cortex et du thalamus fonctionnellement associées au même circuit somatosensoriel (Simpson et al 1997).

Des études récentes montrent que bien que des neurones du LC puissent diverger vers plusieurs régions cérébrales, ils possèdent un biais important vers une cible particulière (Kebuschull et al 2016, Schwarz et al 2015). Les neurones innervant le préfrontal ne divergent pas entre ses différentes régions et sont également ségrégués des neurones innervant le cortex moteur (Chandler et al 2014, Chandler et al 2013). Comme déjà mentionné, Agster et al (2013) ont démontré une hétérogénéité de la densité de varicosités entre le cortex préfrontal et le reste des régions corticales. D'autres études ont révélé une claire dissociation entre les neurones projetant vers le PFC et ceux projetant vers la moelle épinière (Hirschberg et al 2017, Li et al 2016), de même qu'entre les neurones projetant vers le PFC et la BLA (Uematsu et al 2017). L'ensemble de ces éléments et ceux présentés précédemment (Figure 22) indiquent que l'organisation du système LC-NA et l'action sur ses régions cibles ne sont pas homogènes et ont un degré de spécificité important.

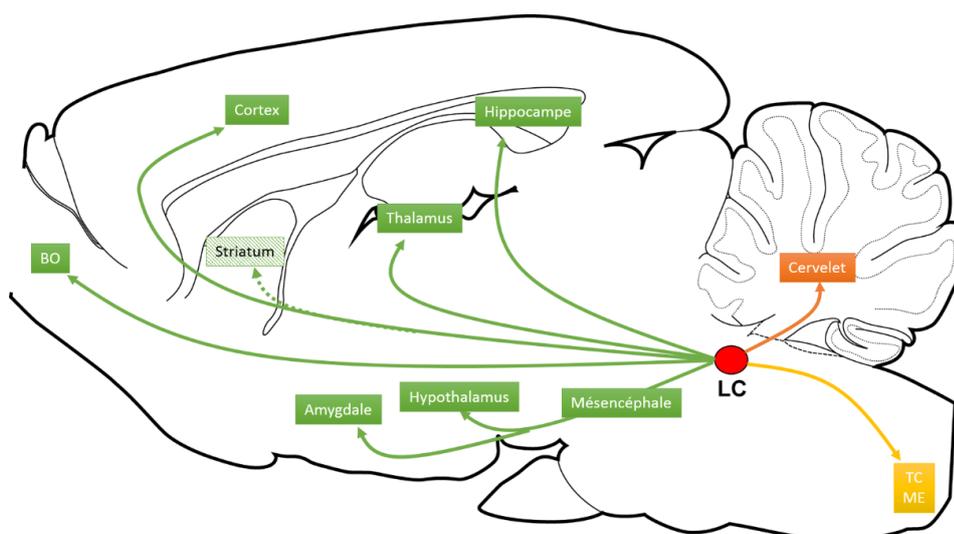


Figure 23. Illustration des principales efférences du LC sur une coupe sagittale de cerveau de rat. Le striatum ne reçoit qu'une faible innervation. LC : Locus Coeruleus ; BO : Bulbe olfactif ; TC : Tronc cérébral ; ME : Moelle épinière.

b) Afférences

Les structures projetant directement vers le noyau du LC où sont localisés les corps cellulaires sont peu nombreuses. Ces structures proviennent du bulbe rachidien (noyau paragigantocellulaire latéral (LGPI) et noyau prepositus de l'hypoglosse) et de l'hypothalamus. Il existe une aire périphérique au LC (péri-LC) dans laquelle s'étend l'arborisation dendritique des corps cellulaires du LC et où se trouvent également des neurones inhibiteurs (Aston-Jones et al 2004). C'est vers ce péri-LC que projettent la grande majorité des structures cérébrales. Ces projections peuvent également être indirectes vers des petits noyaux proches qui projettent ensuite vers le péri-LC (Aston Jones 2004).

Le LC (péri-LC) reçoit des afférences d'un très grand nombre de structures cérébrales (Schwarz et al 2015) qui sont pour la plupart des régions vers lesquelles le LC projette également. L'étude de Schwarz et al (2015) est intéressante car les chercheurs ont utilisé une méthode TRIO (*Tracing the Relationship between Input and Output*), permettant, par une combinaison de vecteurs viraux, d'identifier des neurones sur la base de leurs afférences/efférences. L'étude met ainsi en évidence le patron de régions innervant certains neurones du LC classifiés selon leur projection vers différentes structures. En globalité, cette étude ne montre pas de grandes disparités du pattern d'afférences atteignant les différents neurones du LC. Néanmoins, l'étude a considéré un nombre restreint de ces neurones. De plus, différentes données montrent que les afférences vers le LC jouent un rôle spécifique. Des projections du CeA vers le LC influent sur le comportement anxieux de l'animal (McCall et al 2015). Les neurones hypocrétines issus de l'hypothalamus latéral projetant vers le LC jouent un rôle dans la transition sommeil/veille (Carter et al 2012). Les neurones d'une région bulbaire, jouant un rôle dans le rythme respiratoire, influent sur l'excitabilité du LC lorsque l'animal est placé dans un nouvel environnement mais pas lors d'une contention (Yackle et al 2017). Ces données suggèrent que l'influence des afférences se traduise par une modulation spécifique de l'activité de certains groupes fonctionnels de neurones du LC (Likhtik & Johansen 2019). Ainsi, l'intégration de l'architecture afférente sur les neurones du LC pourrait constituer un degré d'organisation supplémentaire de cette structure. Par ailleurs, l'enregistrement à grande échelle de l'activité unitaire de neurones du LC ne révèle qu'une faible synchronie globale des unités du LC. Néanmoins, une synchronie, dictée par le couplage électrotonique mais également par les afférences communes, existe entre des ensembles réduits de neurones. De manière intéressante, ces ensembles tendent à projeter vers les mêmes régions cérébrales (Totah et al 2019).

1.3 Propriétés électrophysiologiques

Les neurones du LC ont une vitesse de conduction lente de l'ordre de 0.2-0.9 m/s, du fait de leur axone de faible diamètre et non-myélinisé. Les neurones du LC déchargent selon deux modes, un mode tonique et un mode phasique. Le mode tonique correspond à un niveau modéré de décharges régulières à faible fréquence (1 à 5 Hz). Ce mode est fortement corrélé à l'état comportemental veille/sommeil (Aston-Jones & Bloom 1981a, Hobson et al 1975). En effet, cette activité est la plus importante lors d'un état de veille active (>2Hz), plus faible dans un état de sommeil lent (<1Hz) et quasi inexistante dans un état de sommeil paradoxal. Un état intermédiaire de veille « non active » (*quiet*) se traduit par une fréquence intermédiaire (<2Hz). Elle peut également être influencée par un état de stress important qui va augmenter l'activité tonique (Valentino & Van Bockstaele 2008, Wyrofsky et al 2019).

Le mode phasique correspond à des décharges rapides et courtes composées de bouffées de 2-3 potentiels d'actions suivis d'une période d'inhibition de l'activité de décharge. Ces décharges se produisent en réponse à des stimuli saillants et de toute modalité dans l'environnement (Foote et al 1980). Ces décharges phasiques sont dépendantes d'un niveau d'activité tonique modérée (voir plus bas).

1.4 Récepteurs noradrénergiques

Trois principaux types de récepteurs NA ont été identifiés dans le cerveau, les récepteurs $\alpha 1$, $\alpha 2$ et β .

- $\alpha 1$

Les récepteurs $\alpha 1$ ont une affinité intermédiaire entre les affinités des récepteurs $\alpha 2$ et β . Ils sont couplés à une protéine Gq qui stimule l'excitabilité neuronale *via* l'activation d'une voie de signalisation intracellulaire impliquant la protéine kinase C. On peut retrouver trois sous-types, les récepteurs $\alpha 1A$, $\alpha 1B$ et $\alpha 1D$. Ces trois sous-types sont retrouvés dans l'ensemble du système nerveux central avec cependant des prédominances d'un ou plusieurs sous-types dans plusieurs régions cérébrales (Day et al 1997, Domyancic & Morilak 1997, Pieribone et al 1994). Ces récepteurs se retrouvent principalement dans les couches superficielles I-II des régions corticales chez le Singe et le Rat mais également au niveau de couches intermédiaires III-IV uniquement chez le Rat (Goldman-Rakic et al 1990, Pieribone et al 1994). Au sein du cortex préfrontal, le sous-type $\alpha 1A$ est retrouvé en majorité au niveau des couches superficielles tandis que les récepteurs $\alpha 1D$ occupent préférentiellement des couches plus profondes (Santana & Artigas 2017). Une étude récente chez le Singe indique que dans le dlPFC, les récepteurs $\alpha 1$ se trouvent à la fois au niveau post-synaptique et au niveau pré-synaptique sur les neurones

glutamatergiques permettant ainsi la stimulation de la transmission glutamatergique (Datta et al 2019). Notons que les récepteurs $\alpha 1A$, et dans une moindre mesure $\alpha 1D$, ont été retrouvés sur les neurones glutamatergiques excitateurs mais également au niveau d'interneurones GABAergiques dans le cortex et l'hippocampe (Papay et al 2006, Salgado et al 2016, Santana & Artigas 2017).

- $\alpha 2$

Les récepteurs $\alpha 2$ ont la plus grande affinité pour la NA. Ils sont couplés à une protéine G_i responsable de l'inhibition de l'activité adénylate cyclase et de la production d'AMPc et ont donc un effet inhibiteur. Ces récepteurs se composent de trois sous-types $\alpha 2A$, $\alpha 2B$ et $\alpha 2C$ qui sont tous retrouvés dans le système nerveux central en position post-synaptique, néanmoins le sous-type $\alpha 2A$ est également retrouvé en position pré-synaptique (MacDonald et al 1997). Les récepteurs $\alpha 2A$ et $\alpha 2C$ sont retrouvés dans l'ensemble du cerveau. En revanche, la localisation des récepteurs $\alpha 2B$ semble restreinte au thalamus (Nicholas et al 1993a). La densité de récepteurs $\alpha 2$ est la plus élevée dans les couches les plus superficielles I-III du cortex chez le Rat, le singe et l'homme (Goldman-Rakic et al 1990, Pascual et al 1992). Le sous-type $\alpha 2A$ est le plus densément présent dans le cortex préfrontal du Rat, au niveau de toutes les couches (Aoki et al 1998a). Ils sont retrouvés en position post-synaptique, où ils peuvent moduler l'activité de microcircuits préfrontaux (Wang et al 2007). Ils peuvent également inhiber la libération de NA, en agissant localement au niveau pré-synaptique dans les régions cibles (Aoki et al 1998a) mais également en diminuant l'activité des neurones du LC au niveau somato-dendritique (Huang et al 2012). De plus, ces récepteurs peuvent réguler l'activité d'autres types neuronaux en tant qu'hétérorécepteurs. Il a notamment été suggéré que la stimulation de ces récepteurs peut augmenter l'excitabilité dans le cortex préfrontal en agissant sur des interneurones inhibiteurs (Andrews & Lavin 2006, Aoki et al 1998a).

- β

Les récepteurs β ont la plus faible affinité pour la NA. Ces récepteurs sont couplés à une protéine G_s et stimulent la production d'AMPc. Trois sous-types sont connus, $\beta 1$, $\beta 2$ et $\beta 3$ et sont tous retrouvés dans le cerveau (Ramos & Arnsten 2007). Au sein du cortex, le récepteur majeur est le sous-type $\beta 1$ (Nicholas et al 1993b, Summers et al 1995). Bien que ces récepteurs soient relativement présents au sein de toutes les couches corticales, dans le cortex préfrontal, sa distribution est plus dense dans les couches intermédiaires (Goldman-Rakic et al 1990). Bien que le rôle d'autorécepteurs soit communément attribué aux récepteurs $\alpha 2$, certaines données suggèrent que les récepteurs $\beta 2$ pourraient également agir au niveau pré-synaptique et moduler ainsi la libération de NA (Murugaiah & O'Donnell 1995,

O'Donnell 1993). Les récepteurs β sont également retrouvés sur les interneurons GABAergiques, et ce de manière plus importante que les récepteurs α_2 (Aoki et al 1998b).

Ces trois types de récepteurs sont également retrouvés sur les cellules gliales. Ces récepteurs vont permettre la régulation de l'activité neuronale et jouent également un rôle dans la glycogénèse et la glycogénolyse (Hertz et al 2010, O'Donnell et al 2012, Verkhatsky & Nedergaard 2018).

2) Fonctions neuronales

2.1 Cycle veille/sommeil

L'activité tonique du LC a été classiquement associée au changement d'état comportemental veille/sommeil (Berridge et al 2012a). Il n'est d'ailleurs pas étonnant de retrouver une interconnexion entre des noyaux hypothalamiques, impliqués dans les rythmes circadiens, et le LC (Scammell et al 2017). Ces différents états comportementaux sont caractérisés par des variations d'activité, notamment corticales ou thalamiques. Lors d'un état de sommeil lent, l'électroencéphalogramme (EEG) est dit synchronisé, celui-ci présente des ondes de grande amplitude et faible fréquence (Jones 2019). L'enregistrement cellulaire de neurones du cortex somatosensoriel ou du noyau thalamique géniculé latéral révèle un patron d'activité en bouffées de potentiels. Ce mode d'activité est inapproprié à la détection de stimulations sensorielles et donc au traitement de l'information sensorielle (McCormick 1992, McCormick & Bal 1997). A l'inverse, l'activité des mêmes neurones corticaux et thalamiques se fait selon un patron d'activité en mode pic unique (*single spike*) durant l'état de veille, appropriée à la perception et l'intégration d'informations sensorielles (McCormick 1992, McCormick & Bal 1997). De plus, l'état de veille active est caractérisé par des ondes EEG rapides et de faible amplitude (Jones 2019). Des études électrophysiologiques, chez le Rat et le Singe, ont révélé que la variation de l'activité tonique du LC précède toujours le changement d'un état de veille à un état de sommeil lent, et vice versa (Aston-Jones & Bloom 1981a, Foote et al 1980, Rajkowski et al 1994)(Figure 24).

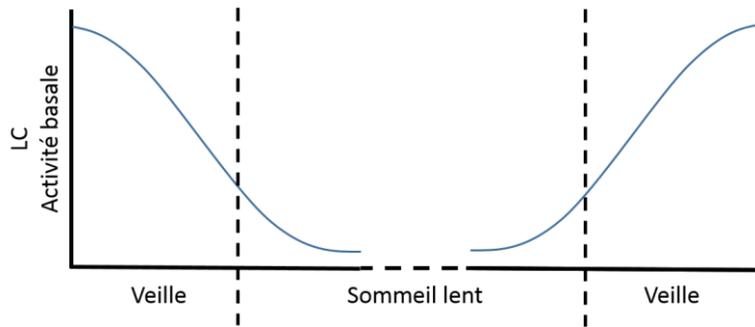


Figure 24. Représentation de l'activité tonique précédant les transitions veille-sommeil lent

L'injection intra-cérébro-ventriculaire d'un agoniste des récepteurs α_2 , la clonidine, induisant une diminution de l'activité noradrénergique, provoque une profonde sédation chez l'animal et la synchronisation de son EEG cortical, caractéristique d'un état de sommeil lent (De Sarro et al 1987). De plus, l'infusion de cet agoniste directement dans le LC produit le même EEG (Figure 25A) (Berridge et al 1993). A l'inverse, l'infusion directe d'un agent activateur de l'activité du LC, chez des animaux anesthésiés, conduit à l'établissement d'un EEG à haute fréquence et de faible amplitude, caractéristique d'un état de veille. Cet effet est bloqué par un prétraitement avec un agoniste des récepteurs α_2 ou un antagoniste des récepteurs β (Berridge & Foote 1991). De la même façon, chez l'animal vigile, une activation optogénétique du LC augmente le temps en éveil et induit l'activation d'un EEG cortical caractéristique de cet état (Figure 25B) (Carter et al 2010, Li et al 2016, Vazey et al 2018). Certaines données indiquent que la NA, en activant les récepteurs α_1 et en dépolarisant les neurones thalamocorticaux mentionnés précédemment, va permettre l'inactivation de courants cellulaires responsables de leur patron d'activité en bouffées de potentiels, caractéristiques du sommeil lent. L'action de la NA facilite, ainsi, un transfert du mode d'activité vers un mode de type pic unique (*single-spike*) lors de la veille (McCormick & Prince 1988).

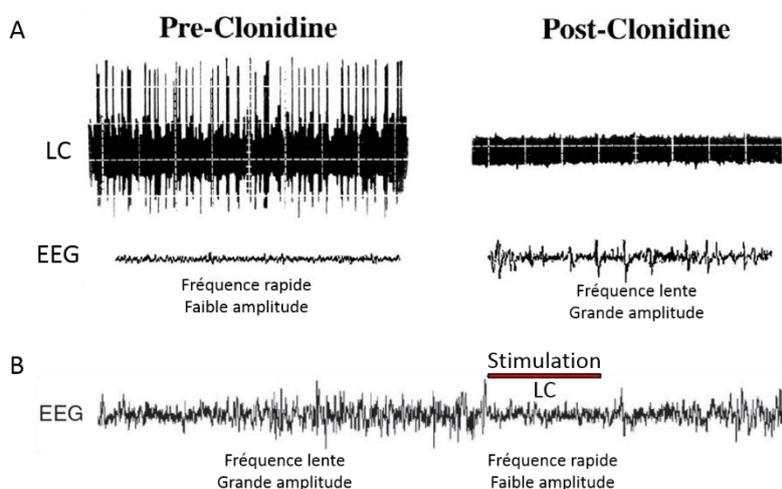


Figure 25. A. L'infusion de l'antagoniste α_2 , clonidine, inhibe l'activité du LC et induit un changement du profil EEG. Adaptée de Berridge et al (1993). **B.** La stimulation optogénétique du LC provoque une transition du sommeil vers un état de veille, caractérisée par l'EEG. Adaptée de Carter et al (2010).

L'ensemble de ces résultats indique que l'activité du système LC-NA est particulièrement actif lors d'un état de veille et semble une composante essentielle à son maintien.

2.2 Modulation de la réponse neuronale

Nous avons vu que les neurones du LC projettent vers les aires corticales de toutes les modalités sensorielles et que la NA est capable de moduler l'activité neuronale afin de faciliter la réponse à des informations sensorielles. En s'intéressant à la modification de la réponse corticale par la modulation noradrénergique, les études ont rapidement démontré l'influence particulière de la NA sur cette fonction.

Les études initiales indiquant une diminution de la décharge de neurones corticaux par l'application de NA ou la stimulation du LC ont conduit à la caractérisation de la NA comme un neurotransmetteur inhibiteur classique (Nelson et al 1973, Olpe et al 1980, Stone 1973). Cependant, les études ultérieures ont montré que la NA est capable de moduler de manière plus fine la réponse neuronale à des stimulations sensorielles. En effet, comme illustrée dans la Figure 26A, la NA est capable de potentialiser les réponses évoquées par un stimulus (signal) tout en atténuant les réponses spontanées non évoquées par le stimulus (bruit). Notons que l'amélioration du rapport signal/bruit est également visible pour des neurones inhibés par le stimulus. Cette amélioration du rapport signal/bruit par la NA se retrouve dans des régions corticales telles que les cortex préfrontal, somatosensoriel, auditif, visuel ou piriforme (Bouret & Sara 2002, Foote et al 1975, Mantz et al 1988, Waterhouse et al 1990, Waterhouse & Woodward 1980). On retrouve cette modulation au niveau thalamique (Navarra et al 2013, Rogawski & Aghajanian 1980), cérébelleux (Freedman et al 1977, Moises et al 1981, Moises et al 1983), du bulbe olfactif (Manella et al 2017) ou encore hippocampique (Segal & Bloom 1976).

D'autres auteurs ont interprété le rôle de la NA dans l'amélioration du rapport signal/bruit comme favorisant l'influence sous-corticale aux dépens de la transmission synaptique corticale intrinsèque (Linster & Hasselmo 2001). Des études *in vitro*, notamment dans le cortex piriforme, montrent en effet que la NA inhibe la transmission excitatrice de neurones corticaux à neurones corticaux sans inhiber la transmission de neurones sous-corticaux (Hasselmo 1995) induisant donc une augmentation du rapport signal (sous-cortical)/bruit (cortical).

Outre l'amélioration du rapport signal/bruit, les études ont aussi montré que la NA était capable d'induire un processus permissif (*gating*) par lequel le seuil des réponses neuronales va être diminué.

Ainsi, sous l'action de la NA, une stimulation subliminaire peut provoquer une réponse neuronale (Figure 26B) (Waterhouse et al 1990, Waterhouse et al 1988).

De plus, d'autres études ont révélé un type d'influence de la NA sur les réponses dépassant la simple évocation d'une réponse amplifiée à un stimulus. En effet, tous les neurones corticaux du cortex auditif ou visuel ne répondent pas de manière uniforme à un stimulus de leur modalité sensorielle. Certains de ces neurones possèdent un champ récepteur particulier et sont capables de répondre préférentiellement à une fréquence d'un stimulus auditif ou une direction donnée d'un stimulus visuel. Les données expérimentales suggèrent que la NA, dans un processus de réglage (*tuning*), est également capable de modifier ce champ récepteur (Figure 26C) (Edeline et al 2011, Manunta & Edeline 2004, Waterhouse et al 1990) .

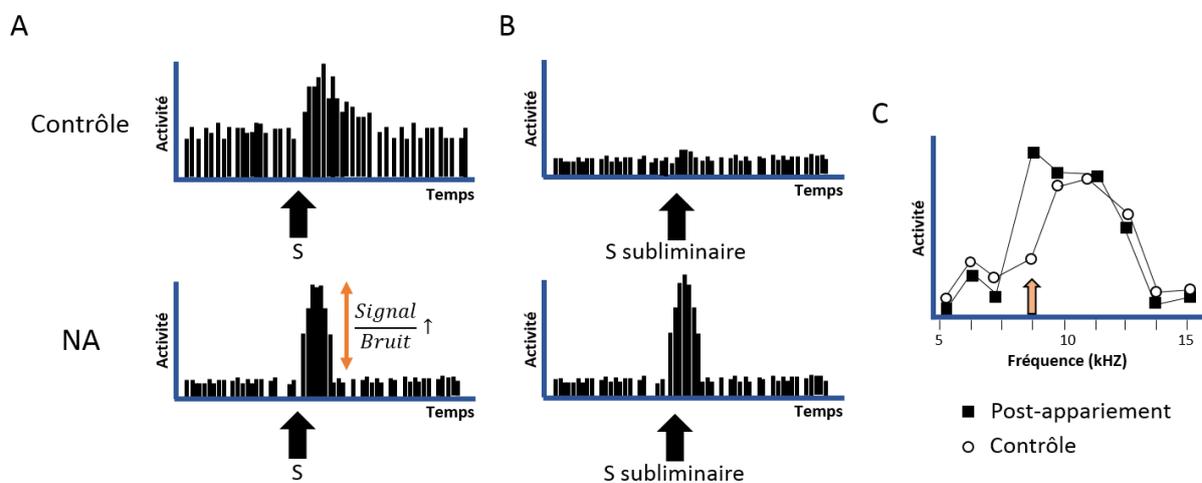


Figure 26. Représentation schématique d'enregistrements de neurones corticaux. **A.** Processus d'amélioration du rapport signal/bruit. **B.** Processus permissif (*gating*). NA : noradrénaline, S : stimulus. **C.** Processus de réglage (*tuning*) dans le cortex auditif, la flèche orange correspond à la fréquence d'un stimulus auditif appariée à une stimulation du Locus Coeruleus, adaptée de Edeline et al (2011).

Comme nous l'avons vu (partie III-1), un même neurone du LC est capable de projeter vers plusieurs étages (thalamiques et corticaux) d'un même circuit somatosensoriel (Simpson et al 1997). Des études ont observé l'influence d'une activation du LC sur la réponse neuronale au niveau d'un tel circuit thalamocortical (Devilbiss et al 2006, Devilbiss & Waterhouse 2004). L'activation noradrénergique provoque une connectivité fonctionnelle accrue entre les neurones thalamiques permettant un signal optimisé dans le cortex (Castro-Alamancos & Bezdudnaya 2015, Fazlali et al 2016, Motaghi et al 2006).

Notons que la modulation de la réponse neuronale par la NA dépend de la dose de NA appliquée ou libérée (Armstrong-James & Fox 1983, Warren & Dykes 1996). L'effet facilitateur de la réponse sensorielle serait permis par une augmentation modérée de NA impliquant les récepteurs α_1 . En revanche, une augmentation trop importante, impliquant les récepteurs β possédant la plus faible

affinité à la NA, impacterait négativement la réponse sensorielle (Devlbiss & Waterhouse 2000). En plus des effets variables selon le récepteur mis en jeu (Mouradian et al 1991, Salgado et al 2012, Sato et al 1989, Waterhouse et al 1981), l'effet varie selon la couche corticale ciblée (Armstrong-James & Fox 1983, Devlbiss & Waterhouse 2000, Waterhouse & Woodward 1980). La distribution des récepteurs selon les couches étant variable, ces deux éléments sont probablement liés. Il est également intéressant de noter qu'une stimulation phasique du LC entraîne une libération plus forte de NA au niveau des structures cibles qu'une activité tonique (Florin-Lechner et al 1996). L'activité phasique du LC est essentielle à l'augmentation de l'excitabilité corticale du mPFC en réponse à un stimulus (Neves et al 2018). Vazey et al (2018) ont montré qu'une activation phasique du LC induit une modulation du traitement de l'information sensorielle dans le cortex, différente d'une activation tonique.

L'ensemble de ces résultats indiquent que la NA est capable de moduler la réponse de structures, notamment corticales, permettant un traitement sensoriel efficace (Constantinople & Bruno 2011).

2.3 Réponse à des stimuli environnementaux

Les précédents éléments indiquent que le LC permet la mise en place d'une activité cérébrale appropriée à la réception et l'intégration d'informations sensorielles (état de veille). De plus, l'action de la NA facilite la réponse neuronale à un stimulus sensoriel et ainsi la transmission du signal. Si le traitement de l'information sensorielle, notamment par le cortex, est facilité lors de l'état de veille (Carcea et al 2017, Castro-Alamancos 2009, Livingstone & Hubel 1981, Steriade 1997), il l'est d'autant plus que cet état se traduit par une sensibilité aux stimuli environnementaux associée à des processus d'attention. Il est indicatif qu'à l'instar du sommeil lent, lors de comportements « automatiques » (Vanderwolf & Robinson 1981), associés à une relative déconnexion des stimuli environnants, tels que le toilettage et la consommation de nourriture, l'activité tonique du LC soit considérablement réduite (Aston-Jones & Bloom 1981a, Grant et al 1988). En revanche, l'activité du LC augmente brusquement (réponse phasique) en réponse à des stimuli environnementaux nouveaux et saillants susceptibles d'interrompre ces comportements et provoquant une orientation de l'animal (Aston-Jones & Bloom 1981b, Grant et al 1988). Néanmoins, si le LC répond de manière phasique à l'apparition de stimuli, il semble que la saillance de ceux-ci ne soit pas l'unique critère permettant d'activer le LC. D'autres études ont montré que la réponse phasique des neurones du LC à des stimuli saillants est rapidement sujette à habituation si ceux-ci n'ont pas de pertinence particulière (p. ex. non suivi par une récompense). Cette réponse peut toutefois réapparaître, mais encore une fois de manière transitoire, si la saillance du stimulus est de nouveau augmentée (Sara & Segal 1991, Vankov et al 1995). L'ensemble de ces résultats

suggère que si la saillance des stimuli induit une activation phasique, c'est la pertinence de ceux-ci qui permet un maintien de cette activité.

3) Fonctions comportementales & cognitives

3.1 Attention

Comme mentionné auparavant, le traitement de l'information sensorielle est facilité par un état d'attention accrue. Chez le Rat, le « *5-choice serial reaction time task* » est une tâche nécessitant une attention soutenue de la part de l'animal afin de répondre correctement à un signal visuel et obtenir une récompense. L'augmentation des niveaux de NA extracellulaire par un bloqueur de la recapture de NA, l'atomoxetine, améliore les performances des animaux (Navarra et al 2008, Robinson 2012). La lésion de la voie ascendante innervant le cortex cérébral altère les performances de l'animal, principalement lorsque la difficulté est augmentée, par exemple par l'ajout d'un distracteur sonore (Carli et al 1983, Cole & Robbins 1992). Le même déficit est retrouvé suite à une déplétion des fibres noradrénergiques dans le mPFC (Milstein et al 2007). Dans une autre tâche d'attention soutenue (détection visuelle), une dose d'un psychostimulant, le méthylphénidate, provoquant une hausse des niveaux de NA et DA dans le PFC améliore les performances de l'animal (Berridge et al 2006). Cette amélioration est empêchée par un antagoniste des récepteurs α_1 (Berridge et al 2012b). Les mêmes effets sont retrouvés lorsque ces substances sont infusées directement dans le dmPFC. Au contraire, un agoniste α_1 améliore les performances d'attention soutenue (Spencer & Berridge 2019).

Ces données assignent un rôle majeur à l'activité du système LC/NA dans le contrôle de la vigilance, ou attention soutenue. La capacité à répondre à des stimuli inattendus et pertinents peut être mise en relation avec les travaux chez le Singe de G. Aston-Jones. Dans une tâche de vigilance classique chez le Singe, deux stimuli visuels sont présentés aux animaux. Seul l'un de ces stimuli est correct (cible) et est présenté peu fréquemment (20% des sessions), l'autre étant un distracteur et est présenté fréquemment (80% des sessions). A la vue du stimulus cible, les animaux doivent relâcher une barre afin d'obtenir une récompense. La présentation du distracteur ne doit produire aucune réponse de leur part. Une bonne performance dans cette tâche reflète ainsi une focalisation de l'attention vers le stimulus pertinent. Des enregistrements électrophysiologiques (Figure 27A) ont révélé la présence d'une décharge phasique des neurones du LC lors de la présentation peu fréquente du stimulus cible tandis

que la présentation des stimuli distracteurs ne provoque, elle, aucune réponse des neurones du LC (Aston-Jones et al 1994). Cette décharge phasique est observable seulement si l'animal répond correctement (*i.e.* l'animal relâche la barre) à la présentation du stimulus cible, elle ne l'est pas lorsque l'animal ne répond pas à la vue de la cible. L'activation phasique n'est également pas présente si l'animal répond en absence de stimuli. De plus, si la signification des stimuli est inversée, les neurones du LC cessent de répondre au précédent stimulus cible et une réponse phasique est déclenchée suite à la présentation de l'ancien stimulus distracteur, devenu cible. L'acquisition de l'inversion mesurée *via* l'activité du LC précède l'expression comportementale de cette acquisition (Aston-Jones et al 1997). Tout ceci indique que l'activité phasique du LC permet de répondre au stimulus pertinent et n'est pas associé aux attributs « physiques » du stimulus. Au cours de ce type de tâche, la fluctuation de l'activité tonique influe sur la performance de l'animal. Une augmentation trop importante entraîne une diminution de la performance. L'animal est alors plus facilement distrait et une recrudescence du nombre de réponses au stimulus distracteur est observée, Au contraire, un niveau d'activité tonique trop bas, correspondant à un état de quasi-somnolence, rend l'animal inattentif et désengagé de la tâche (Aston-Jones et al 1999). Ces niveaux « extrêmes » d'activité tonique ne permettent pas l'apparition d'une forte activité phasique suite à la présentation du stimulus cible. L'émergence de cette activité phasique est conditionnée à un niveau d'activité tonique modéré. Cette configuration est synonyme d'un engagement et une attention focalisée dans la tâche, permettant une performance maximale. Ainsi, la performance dans la tâche suit une courbe en U-inversé (Figure 27B).

A la vue de ces résultats, il apparaît que l'équilibre d'activité du système LC-NA joue un rôle crucial dans la vigilance permettant une attention focalisée vers l'environnement pour un traitement spécifique de ses éléments pertinents (Usher et al 1999).

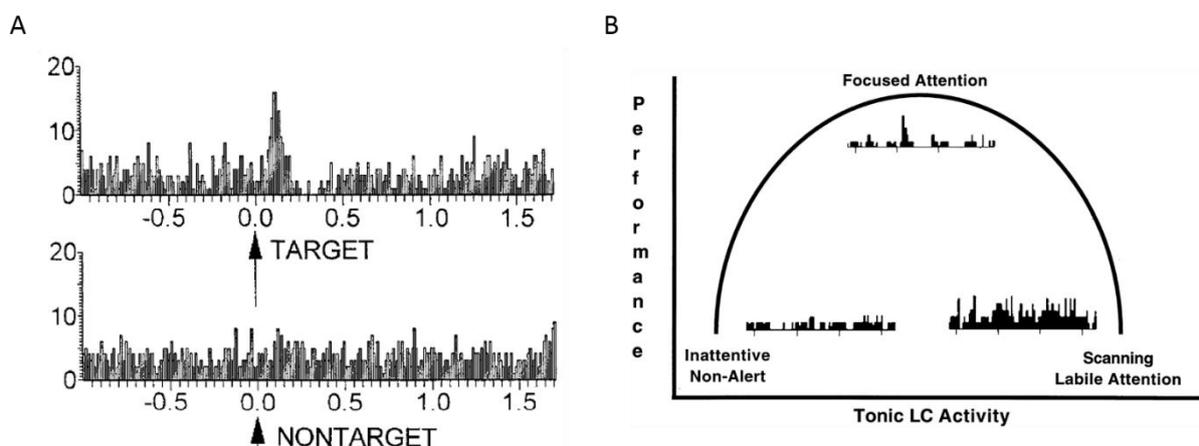


Figure 27 A. Enregistrement neuronal du LC. La présentation du stimulus cible (target) provoque une décharge phasique du LC. La présentation du stimulus distracteur (nontarget) ne produit pas la décharge phasique. B. La performance dans la tâche suit une courbe en U-inversé, dépendante de l'activité tonique du LC. Adaptée de Aston-Jones et al (1997), Aston-Jones et al (1994).

Des analyses supplémentaires ont révélé que la réponse phasique des neurones du LC est temporellement liée à la réponse comportementale, davantage qu'à la présentation du stimulus. Ainsi la latence de la réponse des neurones du LC suite au stimulus cible est variable mais le délai entre cette réponse et la réponse comportementale est constante, ainsi la réponse du LC précède systématiquement la réponse comportementale d'environ 200 ms. La variabilité de la latence de l'activité du LC suite au stimulus influe ainsi sur le temps de réaction comportemental. Cette latence est notamment augmentée lorsque la discrimination des stimuli cible et distracteur est rendue plus difficile (Rajkowski et al 2004). Cette activité noradrénergique permettrait donc la genèse d'une réponse comportementale suite à un processus décisionnel² (Aston-Jones & Cohen 2005). Les données expérimentales montrent que le mode d'activité phasique est présent lors d'une performance maximale, lorsque l'animal est engagé dans la tâche et que celle-ci a été comprise. Selon les auteurs, ce mode d'activité agirait comme un filtre attentionnel de stimuli non-pertinents et ainsi favoriserait un mode d'exploitation, caractérisé par l'exécution répétée, à la suite d'un stimulus pertinent, d'une réponse associée à une forte valeur (p. ex. obtention de récompenses). A l'inverse, une hausse de l'activité tonique associée à une baisse de la performance et un comportement hyperactif, moins focalisé sur la tâche, favoriserait un mode d'exploration. Si dans la tâche sus-citée, la hausse de l'activité tonique est associée à une baisse de la performance, cette hausse n'est pas intrinsèquement non-adaptative. Le mode d'exploration pourrait être essentiel à l'adaptation à des environnements changeants en permettant la recherche de sources alternatives de récompenses. La recherche d'alternatives peut être stimulée par des variations de l'utilité, le rapport coût/bénéfice, attribuée à une réponse. Dans le modèle (cf Boîte 4) de Aston-Jones & Cohen (2005), c'est l'évaluation de l'utilité qui va déterminer la transition de l'activité du système LC/NA d'un mode tonique à un mode phasique, et *vice versa*. Ces transitions seraient ainsi à l'origine des transitions entre des comportements d'exploration ou d'exploitation. Pour cette évaluation, des informations originaires de l'OFC, concernant l'évaluation de la récompense, et du cortex cingulaire antérieur (ACC), concernant le coût relatif à la tâche, seraient transmises au péri-LC (Aston Jones 2004). L'activité noradrénergique agirait en retour en améliorant le gain neuronal³ afin de faciliter la réponse comportementale aux stimuli de l'environnement (cf Boîte 4)

Bien que la mesure ne soit pas spécifique du LC, le diamètre pupillaire est utilisé comme indicateur indirect de son activité (Joshi et al 2016). L'utilisation de cette mesure chez l'humain a permis d'appuyer

² Le processus décisionnel tel que défini par Aston-Jones & Cohen (2005) consiste en une mise en relation entre un stimulus pertinent et la réponse comportementale correspondante.

³ Par augmentation du gain neuronal s'entend l'augmentation de la réactivité des neurones. Ainsi l'activité des neurones déjà activés sera augmentée et l'activité neurones inhibés sera davantage réduite.

la théorie d'Aston-Jones & Cohen (2005). Gilzenrat et al (2010) ont ainsi montré qu'un faible diamètre pupillaire basal conjugué à des dilatations larges et transitoires, indicateur d'un mode phasique, est associé à une performance maximale dans une tâche similaire à celle présentée précédemment chez le Singe. À l'inverse, un grand diamètre pupillaire basal conjugué à des dilatations transitoires atténuées, indicateur du mode tonique, est associé à de faibles performances. Dans une tâche permettant réellement au sujet d'adopter un comportement d'exploitation ou d'exploration, le diamètre pupillaire basal est augmentée lors de choix exploratoires comparé aux comportements d'exploitation (Jepma & Nieuwenhuis 2011). De plus, dans ces études, la diminution de l'utilité est corrélée à une augmentation du diamètre pupillaire basal aboutissant à un comportement de désengagement et d'exploration (Gilzenrat et al 2010, Jepma & Nieuwenhuis 2011). Ces données suggèrent donc également que **l'activité du LC régule l'équilibre entre des comportements d'exploitation et exploration.**

Boîte 4 – Modèle théorique du gain neuronal

Le modèle computationnel de Usher et al (1999) propose que les stimuli activent des unités dans une « couche » décisionnelle (Figure 1). Selon un modèle accumatif (*drift diffusion*), l'une des unités est activée après avoir franchi un certain seuil. L'activation de l'unité « cible » active les neurones du LC. Ces neurones augmentent ensuite le gain neuronal dans le réseau et notamment au niveau de la « couche » réponse. Cette augmentation du gain neuronal permet la facilitation de la réponse comportementale résultante du processus décisionnel. L'activité phasique du LC agit ainsi comme un filtre attentionnel permettant uniquement des réponses comportementales à des événements utiles au cours de la tâche.

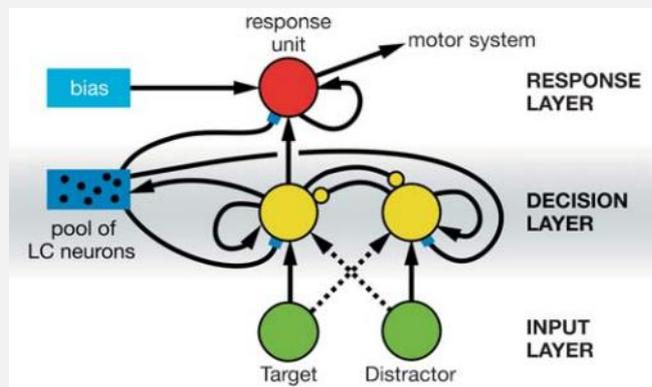


Figure 1. Tirée de Aston-Jones & Cohen (2005)

Les modes phasique et tonique sont déterminés par le couplage électrotonique des neurones du LC. En effet, il existe des jonctions communicantes entre des neurones du LC permettant une relative synchronisation de leur activité (Berridge & Waterhouse 2003, Ishimatsu & Williams 1996). Le modèle propose qu'un fort couplage électrotonique des neurones du LC favorise un mode d'activité phasique. A l'inverse, un couplage électrotonique faible favoriserait le mode tonique. Les unités de la couche décisionnelle joueraient sur ces propriétés physiologiques afin de faire transiter le LC entre ces deux modes. Selon Aston-Jones & Cohen (2005), la résultante du processus décisionnel est transmise *via* l'OFC et l'ACC. Ces deux structures fournissent au LC les informations concernant l'évaluation de la récompense et du coût relative à la tâche, déterminant ainsi l'utilité. Une utilité haute favorise le mode phasique des neurones du LC, en augmentant le couplage électronique. En revanche, une utilité faible provoque l'établissement d'un mode tonique par l'abaissement du couplage électronique. A l'inverse du mode phasique, le mode tonique provoque une augmentation du gain neuronal persistant et général qui promeut la réponse du réseau à tous les stimuli et ainsi une plus grande distraction.

En résumé, Aston-Jones & Cohen (2005) proposent que l'activité noradrénergique module les phases d'exploration et d'exploitation en jouant sur le gain neuronal dans des structures corticales cibles.

3.2 Mémoire de travail

La modulation noradrénergique dans le PFC est importante pour la mémoire de travail, définie comme la capacité à maintenir des informations pendant un délai court. Les travaux de Goldman-Rakic ont mis en évidence que l'activité des neurones du PFC est essentielle à ce maintien d'informations pendant un certain délai (Constantinidis et al 2018, Funahashi et al 1989, Goldman-Rakic 1995). Cette activité et la performance dans une tâche de mémoire de travail est dépendante de la modulation noradrénergique (Arnsten 2000, Berridge & Spencer 2016, Robbins & Arnsten 2009). L'effet de la NA dépend des récepteurs adrénergiques mis en jeu et donc du niveau de NA. Nous l'avons déjà évoqué, les récepteurs de type $\alpha 2$ possèdent la plus forte affinité pour la NA. Ceux-ci sont donc recrutés par des niveaux bas à modérés de NA. Ainsi, à ces niveaux, l'altération de l'activité des récepteurs $\alpha 2A$ perturbe la performance dans une tâche de mémoire de travail (Li & Mei 1994, Ramos & Arnsten 2007). A l'inverse, l'administration systémique d'un agoniste des récepteur $\alpha 2A$ permet de normaliser les performances dans une tâche de mémoire de travail perturbée par une activité préfrontale altérée chez le Singe âgé. Le même effet bénéfique est retrouvé par l'infusion directe de cet agoniste $\alpha 2A$ dans le mPFC de rats âgés (Arnsten & Goldman-Rakic 1985, Ramos et al 2006). Les récepteurs $\alpha 2A$ post-synaptiques, au niveau dendritique, vont notamment faciliter l'activité de microcircuits pyramidaux du PFC, responsables du maintien de l'information, en influant sur la synthèse d'AMPC et l'ouverture de canaux HCN à l'origine de courants cationiques (Wang et al 2007).

Tant que les niveaux de NA restent bas ou modérés, l'inactivation des récepteurs $\alpha 1$ n'a aucun effet (Li & Mei 1994). En revanche, l'activation de ces récepteurs $\alpha 1$ perturbe la mémoire de travail (Arnsten et al 1999, Datta et al 2019). Ces récepteurs $\alpha 1$, possédant une plus faible affinité que les $\alpha 2$, ne sont recrutés qu'à des niveaux élevés de NA. Un stress important conduit à une élévation forte des niveaux de NA libérée et celle-ci perturbe la mémoire de travail dépendante du PFC par le recrutement des récepteurs $\alpha 1$. Antagoniser les récepteurs $\alpha 1$ permet d'atténuer l'effet délétère d'un stress important sur la mémoire de travail (Birnbaum et al 1999). L'activation des récepteurs $\alpha 1$ post-synaptiques perturbe le maintien de l'information en induisant une inhibition de l'activité des microcircuits neuronaux dans le PFC *via* une voie de signalisation intracellulaire (PKC) provoquant l'hyperpolarisation des cellules (Birnbaum et al 2004, Datta & Arnsten 2018, Runyan et al 2005). Les récepteurs moins affins $\beta 1$ semblent également avoir un effet délétère, puisque l'injection d'un antagoniste directement dans le mPFC de rats améliore leur performance dans une tâche de mémoire de travail (Ramos et al 2005)

En résumé, des niveaux optimaux de NA par son action post-synaptique sur les récepteurs $\alpha 2A$ facilitent la mémoire de travail (Figure 28). En revanche, lors d'une libération trop élevée de NA, par exemple due à un stress important, le recrutement des récepteurs moins affins $\alpha 1$ ou $\beta 1$ perturbe l'activité du PFC et la mémoire de travail. L'effet de la modulation noradrénergique est donc dépendant de l'état de l'individu déterminant le niveau de NA libérée.

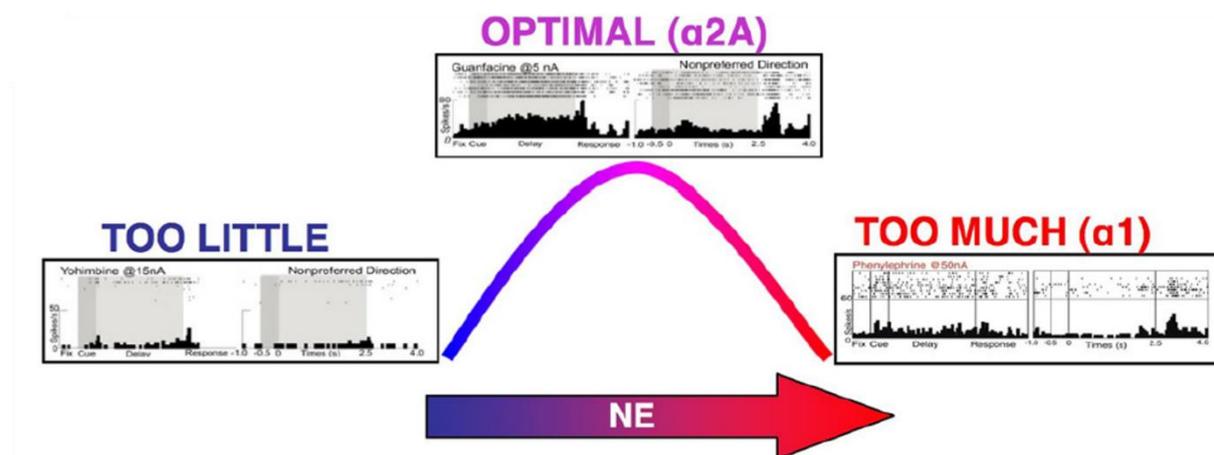


Figure 28. Dans une tâche classique de mémoire de travail spatiale chez le Singe, des neurones du dIPFC, organisés en microcircuits spécifiques à une information spatiale, maintiennent une activité tout au long du délai. Celle-ci n'est observable qu'à des niveaux optimaux de NA recrutant les récepteurs $\alpha 2A$. Les niveaux trop faibles sont synonymes d'un état de somnolence/fatigue, inapproprié à l'exécution de la tâche. Des niveaux trop élevés, notamment à la suite d'un stress, activent les récepteurs $\alpha 1$ qui perturbent l'activité coordonnée des microcircuits préfrontaux et par conséquent le maintien de l'information durant le délai. Tirée de Arnsten (2011)

3.3 Consolidation et rappel mnésique

Les travaux de S. Sara ont associé le rôle du système LC-NA dans l'attention et le traitement sensoriel à une implication dans le rappel mnésique (Sara 1985). Cette proposition se basait sur l'idée de Kupalov (1961) selon laquelle le contexte où a lieu un apprentissage conditionne un réflexe. La remise dans le contexte de l'animal induit ce réflexe, nommé réflexe conditionné tronqué. Celui-ci se traduit par une augmentation de l'éveil cortical et de l'attention facilitant le rappel de l'apprentissage. Le rôle du système LC-NA dans les processus attentionnels en font un candidat idéal pour ce type de processus (Sara 1985). Dans une tâche de labyrinthe linéaire, une exposition au contexte précédant le test de rappel mnésique permet d'optimiser les performances de l'animal (Deweere et al 1980). Cette facilitation est reproduite par une stimulation du LC avant le test (Sara & Devauges 1988), effet facilitateur bloqué par l'administration systémique préalable d'un antagoniste des récepteurs β (Devauges & Sara 1991). L'administration systémique d'un antagoniste des récepteurs $\alpha 2$, augmentant la libération de NA, avant le test facilite également le rappel mnésique (Sara & Devauges 1989). Des souris génétiquement modifiées, n'exprimant plus la D β H, ont à l'inverse un déficit lors du rappel dans une tâche de

conditionnement. Un niveau normal de performance est restauré par l'administration de NA avant le rappel et dépend de l'activation de récepteurs β_1 dans l'hippocampe (Murchison et al 2004). Chez l'Homme, le LC est activé au moment du rappel d'items mémorisés mais uniquement lorsque ceux-ci ont été encodés dans un contexte ayant entraîné une réponse émotionnelle. Cette réponse est évaluée par la dilatation pupillaire et peut être reliée à l'activité du système LC-NA (Sterpenich et al 2006).

Ce dernier résultat indique que la modulation NA influe également sur les éléments mémorisés par l'organisme (Clewett & Murty 2019). De fait, la performance de rappel est perturbée par l'altération de l'activité noradrénergique avant l'encodage, au moyen d'un antagoniste des récepteurs β (Maheu et al 2004, Rimmel et al 2016). Il apparaît que l'implication de la NA est cruciale pour la consolidation de la mémoire (Roosendaal & McGaugh 2011). Comme nous l'avons montré au cours de mon stage de Master (encadrante : Dr Marie-Pierre Moisan), la consolidation est facilitée par un niveau de stress modérément élevée impliquant des hormones du stress telles que l'adrénaline et les glucocorticoïdes (de Medeiros et al 2019, LaLumiere et al 2017, Roosendaal et al 2006). Ces hormones vont notamment influencer sur l'activité noradrénergique au sein de la BLA (Figure 29) (Barsegyan et al 2014, Beldjoud et al 2015, LaLumiere et al 2003, Roosendaal & McGaugh 2011). Cette activité implique une interaction entre les récepteurs β et α_1 (Barsegyan et al 2014, Ferry et al 1999a, Ferry et al 1999b, Roosendaal et al 2008). L'activation de ces récepteurs module la plasticité synaptique nécessaire à la consolidation à long-terme dans la BLA et dans les régions où elle projette telles que le dmPFC ou l'hippocampe (McReynolds et al 2010, McReynolds et al 2014). La source de NA dans la BLA provient de projections noradrénergiques issus du noyau du tractus solitaire (NTS) qui l'innervent directement (Ricardo & Koh 1978) ou indirectement *via* le LC qui projette également vers la BLA, directement ou *via* le noyau paragigantocellularis (McCall et al 2017, Van Bockstaele et al 1998, Van Bockstaele et al 1999).

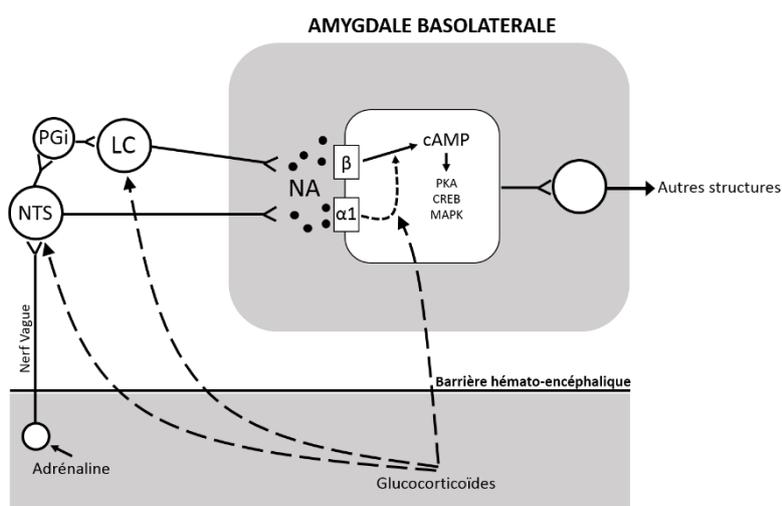


Figure 29. Action de la noradrénaline (NA) sur l'amygdale basolatérale (BLA) et la consolidation mnésique. La NA libérée agit sur les récepteurs β et α_1 . La production d'AMPc initie une cascade intracellulaire. L'action de la NA dans la BLA est nécessaire à la régulation de la consolidation mnésique dans d'autres structures. Des hormones du stress périphériques telles que l'adrénaline et les glucocorticoïdes interagissent avec le système noradrénergique. NTS : Noyau du tractus solitaire, PGI : Noyau paragigantocellularis, LC : Locus Cœruleus. Adaptée de Roosendaal & McGaugh (2011)

Il est intéressant de noter également que la stimulation, électrique ou pharmacologique, de l'activité noradrénergique directement dans le LC ou dans la BLA, améliore la potentialisation synaptique à long-terme de la voie hippocampo-préfrontale (Lim et al 2017, Lim et al 2010). La modulation noradrénergique de la plasticité synaptique à long-terme a été largement décrite comme participant à la consolidation mnésique (Harley 2007). Un modèle GANE (pour 'Glutamate Amplifies Noradrenergic Effects') propose un mécanisme de « point chaud » dans lequel se produit une interaction entre les activités noradrénergique et glutamatergique (Mather et al 2016). Cette interaction crée une facilitation réciproque de ces activités, *via* les récepteurs β sur les neurones glutamatergiques et les récepteurs NMDA au niveau des varicosités noradrénergiques. Ce 'point chaud' va notamment permettre la potentialisation à long-terme des régions synaptiques les plus actives permettant une sélection et une mémorisation des informations les plus saillantes (Huang et al 2013, Salgado et al 2012).

La consolidation implique également des processus non immédiats, intervenant après un certain laps de temps à la suite de l'encodage et notamment lors du sommeil. Chez des rats entraînés à une tâche de discrimination olfactive, l'activité des neurones du LC diminue lors du sommeil lent mais croît transitoirement environ deux heures après l'apprentissage. Cette augmentation de l'activité du LC n'est pas retrouvée chez des animaux n'ayant eu aucun apprentissage (Eschenko & Sara 2008). De manière intéressante, une augmentation de la libération de NA est observée au même moment dans le dmPFC, après un apprentissage (Tronel et al 2004). La performance lors du rappel est perturbée par l'inactivation de récepteurs β adrénergiques deux heures après l'apprentissage (Roullet & Sara 1998, Tronel et al 2004). Durant le sommeil, des états transitoires d'activité accrue existent dans le cortex. L'activité du LC précède la transition vers ces états, suggérant une implication de l'activité noradrénergique dans l'excitabilité corticale au cours du sommeil, cruciale pour la consolidation (Eschenko et al 2012). En effet, ces états transitoires au cours du sommeil permettraient une communication efficace entre le cortex et l'hippocampe et ainsi la consolidation de la mémoire (Sirota & Buzsaki 2005). Suite à un apprentissage, l'activité noradrénergique influe sur la coordination de ces deux activités lors du sommeil. La perturbation de cette coordination hippocampo-corticale par une activité noradrénergique anormale perturbe la performance lors du rappel mnésique (Novitskaya et al 2016).

3.4 Conditionnement de peur

En lien avec les fonctions précédentes, la NA est impliquée dans l'apprentissage émotionnel aversif, représenté par le conditionnement de peur (Giustino & Maren 2018, Likhtik & Johansen 2019). L'expérience de chocs électriques induit une libération de NA dans l'amygdale (Quirarte et al 1998). La NA, en activant les récepteurs β , est à l'origine de la plasticité synaptique au sein de la BLA nécessaire à l'apprentissage du conditionnement de peur (Schiff et al 2017). Des études récentes ont montré l'implication de la voie LC-BLA, la stimulation de cette voie promouvant un comportement anxieux et améliorant l'apprentissage du conditionnement de peur (McCall et al 2017, Uematsu et al 2017). A l'inverse, l'inhibition de cette voie perturbe cet apprentissage (Uematsu et al 2017). L'étude de Uematsu et al (2017) a par ailleurs mis en évidence l'hétérogénéité des neurones du LC projetant vers la BLA par rapport à ceux projetant vers le vmPFC (IL), impliquée dans l'extinction de la peur conditionnée (Herry et al 2010). L'infusion d'un antagoniste des récepteurs β dans le vmPFC avant l'extinction, perturbe le rappel ultérieur de l'extinction (Mueller et al 2008). De plus, l'inhibition spécifique de la voie LC-vmPFC durant l'extinction perturbe l'extinction de la peur conditionnée. En revanche, sa stimulation perturbe également le rappel de l'extinction, et cet effet délétère est contrecarré par un antagoniste des récepteurs α_1 dans l'IL. Ces résultats indiquent que l'effet de la NA dans l'IL suit une courbe en U-inversé (Uematsu et al 2017).

3.5 Motivation et effort

Plus récemment, un rôle du système LC-NA dans la motivation a également été décrit chez le Singe par S. Bouret et collaborateurs. Dans une de leurs tâches, les animaux sont placés devant un écran et disposent de barres métalliques dans chaque main. Sur l'écran, apparaissent des stimuli visuels indiquant le nombre de pressions à réaliser sur une des barres et la quantité de récompense pouvant être obtenue en accomplissant cela. Par la suite, au cours de la séquence, de nouveaux stimuli visuels apparaissent proposant à l'animal une autre option (p. ex. une séquence plus courte mais une récompense plus faible ou une séquence plus longue mais une récompense plus importante). Lors de cette tâche, la diminution de l'activité noradrénergique par l'administration de clonidine provoque une stabilisation du comportement de l'animal, se traduisant par des décisions moins variables lorsque l'animal est confronté aux mêmes choix. Cet effet indique un rôle de la NA dans la flexibilité comportementale. Point supplémentaire crucial, les auteurs ont également mis en évidence que sous l'effet de la clonidine, la force produite sur la barre est réduite. Des données supplémentaires indiquent

que ces effets n'interagissent pas entre eux ni avec l'état de vigilance ou d'éveil, indiquant une spécificité de la fonction de la NA sur la production de l'effort (Jahn et al 2018). Par ailleurs, l'activité des neurones du LC lors de la réalisation d'une pression sur la barre métallique est modulée par le niveau de force requise (Varazzani et al 2015). A noter, que chez l'humain, la dilatation pupillaire varie proportionnellement au niveau d'effort demandé au sujet (Zenon et al 2014). Ces résultats indiquent que l'activité noradrénergique est associée à la mobilisation de ressources nécessaires à un effort important. L'étude de Varazzani et al (2015) a également mis en lumière une dissociation fonctionnelle entre ces neurones du LC et les neurones dopaminergiques du SNC, l'activité de ces derniers étant davantage modulée par la valeur de la récompense que par le niveau d'effort à fournir (voir Walton & Bouret 2019 pour une discussion sur la DA et l'effort). Ainsi, dans une situation où la valeur de la récompense attendue, seule, n'est pas suffisante pour induire une réponse, l'activité du LC permettrait une mobilisation supplémentaire de ressources nécessaires à la réalisation de cette réponse (Bouret et al 2012, Bouret & Richmond 2015).

3.6 Flexibilité comportementale et adaptation

Comme évoqué précédemment, les résultats de Jahn et al (2018) montrent une influence de l'activité noradrénergique sur la labilité comportementale. Allant dans le même sens, la diminution de l'activité noradrénergique altère également la représentation hippocampique d'alternatives spatiales, limitant les options considérées par l'animal (Amemiya & Redish 2016). A l'inverse, la stimulation globale de l'activité noradrénergique augmente l'exploration de différentes alternatives (Kane et al 2017). Par ailleurs, la stimulation spécifique des afférences noradrénergiques dans le cortex cingulaire antérieure de rats rend leurs choix plus aléatoires (Tervo et al 2014). Ces résultats montrent que l'activité du système LC-NA promeut une flexibilité comportementale. Cette vision est renforcée par la plasticité de la réponse du système LC-NA à des stimuli. Nous avons vu que ce système répond à des stimuli saillants mais principalement pertinents, prédicteurs d'une récompense par exemple (Aston-Jones et al 1994, Bouret & Sara 2004, Sara & Segal 1991). Si les contingences entre stimuli et récompenses sont modifiées, l'activité des neurones du LC s'adapte rapidement à ces nouvelles contingences (Aston-Jones et al 1997, Sara & Segal 1991). Cette adaptation de l'activité précède l'expression comportementale de l'adaptation à ces changements ainsi que la réponse évoquée par ces stimuli dans le dmPFC (Bouret & Sara 2004).

a) Réorganisation de réseaux neuronaux

Bouret & Sara (2004) ont proposé une théorie expliquant comment la NA pourrait permettre l'adaptation comportementale. Dans leur tâche de Go/No-Go, un signal lumineux annonce le début d'une session et la survenue prochaine d'un stimulus olfactif dans un port indiquant d'initier une réponse ('Go') ou non ('No-Go') vers un autre port où est délivrée la récompense. Ce signal lumineux évoque une réponse phasique des neurones du LC correspondant à un comportement d'orientation, d'engagement dans la tâche et d'attente de la présentation du stimulus olfactif. Une réponse phasique est ensuite observée spécifiquement suite à la présentation du CS+ (signal 'Go') indiquant la possibilité d'obtenir une récompense suite à une réponse 'Go'. A l'instar des résultats d'Aston-Jones (2004), cette réponse phasique est temporellement associée à la réponse comportementale mais n'est pas associée à l'acte moteur en lui-même. La présentation du CS- (signal 'No Go'), elle, ne provoque aucune réponse des neurones du LC. Ces résultats indiquent que les événements générant une réponse phasique du LC correspondent à des moments de transitions comportementales.

Les auteurs proposent que ces changements comportementaux soient permis par la modulation noradrénergique des réseaux neuronaux des régions où le LC projette. La proposition de Bouret & Sara (2005) s'inspire des circuits moteurs gastriques de crustacés. Ceux-ci se caractérisent par des réseaux neuronaux simples soumis à l'action de neuromodulateurs. Ces derniers sont capables d'interrompre l'activité de ces réseaux, induisant ainsi leur réorganisation et la genèse de nouveaux réseaux fonctionnels permettant une adaptation rapide. Dans la tâche précédente, l'activité du LC contraste effectivement fortement avec celle de ses régions cibles. Le signal lumineux de début de session évoque une réponse phasique des neurones du LC suivie par une inhibition de l'activité des neurones du mPFC et du CeA. Par ailleurs, comme énoncé auparavant, les neurones du LC sont activés suite à la présentation du CS+ conduisant à la réponse comportementale (Go). Les neurones du mPFC et du CeA sont ensuite activés lors du délai entre cette réponse et la distribution de la récompense (Bouret & Sara 2004, Bouret & Sara 2005). Ainsi, selon les auteurs, à l'instar des variations abruptes de l'activité de réseaux neuronaux observées chez des invertébrés, l'activité phasique du LC permettrait une réinitialisation de l'activité neuronale au sein de structures efférentes à la suite de stimuli pertinents (Figure 30). L'activité permettrait ainsi l'établissement de nouveaux réseaux à la base de changements comportementaux. Contrairement à la proposition d'Aston-Jones & Cohen (2005) selon laquelle la NA induit un changement quantitatif en augmentant le gain neuronal, ici la NA opèrerait un changement qualitatif au niveau des réseaux neuronaux.

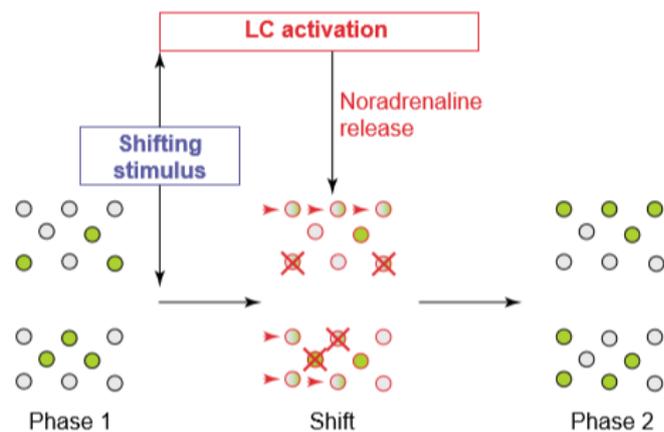


Figure 30. La phase 1 est caractérisée par l'activation d'un certain réseau neuronal (vert). Un stimulus pertinent va activer le LC. La libération de NA va initier une modification de ce réseau neuronal fonctionnel. Cette modification se caractérise par l'activation de nouveaux neurones et le désengagement d'autres neurones (croix rouges). Un nouveau réseau neuronal est ainsi fonctionnel dans la phase 2. Tirée de Bouret & Sara (2005).

En accord avec l'idée d'une modulation de l'activité de réseaux neuronaux par la NA, plusieurs études récentes montrent que des modifications à grande échelle s'opèrent sous l'influence de l'activité noradrénergique. La stimulation de la transmission noradrénergique par administration d'un agent bloquant la recapture de la NA modifie la connectivité fonctionnelle entre de grands réseaux cérébraux au repos, incluant notamment des réseaux frontopariétaux et somato-moteurs (Guedj et al 2017). L'effet de l'activité noradrénergique dépend du niveau de NA libérée. Cette libération peut être fortement augmentée dans un état de stress. Dans une étude chez la souris, l'activation pharmacogénétique du LC provoque un comportement anxieux chez l'animal vigile. Cette activation s'accompagne de modifications de la connectivité fonctionnelle de réseaux cérébraux, et notamment au sein d'un réseau de « saillance » (IC agrulaire, ACC, striatum, le noyau Pf du thalamus, hippocampe) et d'un réseau amygdalien (Zerbi et al 2019). Chez l'Homme, un stress aigu provoque l'activation d'un réseau de « saillance » équivalent, activation perturbée par l'administration de propranolol, antagoniste des récepteurs β (Hermans et al 2011). Par ailleurs, une étude récente a montré que la perturbation de l'activité noradrénergique dans la BLA, par infusion de propranolol, altère les interactions fonctionnelles entre le dmPFC et l'IC antérieur, essentielles à la consolidation dans une tâche de reconnaissance d'objet, ainsi qu'entre le dmPFC et l'hippocampe dorsal, essentielles à la consolidation dans une tâche spatiale (Barsegyan et al 2019).

L'ensemble de ces données indique que l'activité noradrénergique est capable de moduler l'activité de réseaux neuronaux à grande échelle. La modulation de ces réseaux semble dépendre du contexte dans lequel s'enclenche l'activité noradrénergique permettant ainsi la modulation de différentes fonctions cognitives.

b) Incertitude

L'adaptation comportementale s'opère également par la prise en compte du caractère incertain et inattendu des événements dans l'environnement. Dans la tâche de vigilance présentée précédemment, l'activité évoquée du LC est d'autant plus importante que le CS+ est présenté peu fréquemment par rapport au CS- (Aston-Jones et al 1994). Dans la tâche de discrimination olfactive menée par Bouret & Sara (2004), les neurones du LC répondent à l'obtention de la récompense dans des situations où son obtention est inattendue, n'étant pas prédite par le CS+, par exemple lorsque la récompense est réintroduite après extinction du CS+. Yu & Dayan (2005), ont formalisé l'idée que l'incertitude dont l'animal fait l'expérience est une composante importante de l'activité noradrénergique. Se basant sur les données de Devauges & Sara (1990) impliquant la NA dans une tâche de *set shifting* (voir plus bas), les auteurs proposent que le changement du type d'informations à prendre en compte dans ce type de tâche constitue une incertitude inattendue. Cette incertitude, résultante d'une modification de la nature de la tâche, serait signalée par une hausse de l'activité tonique de la NA et permettrait l'amélioration de l'apprentissage. Cette activité noradrénergique favoriserait le traitement d'informations sensorielles (*bottom-up*) aux dépens d'un processus cognitif intra-cortical (*top-down*) afin d'intégrer une information inattendue et ne correspondant pas aux attentes. L'activité phasique de la NA signalerait également l'incertitude inattendue mais au sein d'une même tâche lorsque l'animal expérimente des événements inattendus nécessitant une transition comportementale (Dayan & Yu 2006). Epousant une interprétation proche de celle de Bouret & Sara (2005), les auteurs proposent que la réponse phasique liée à ces événements inattendus agisse comme un signal interrupteur du processus cognitif en cours permettant d'opérer une transition comportementale entre les différents états de la tâche. Chez l'humain, des changements du diamètre pupillaire sont associés à l'intégration de l'incertitude inattendue dans des tâches d'inférences prédictives, permettant ainsi de mettre à jour ses connaissances (*belief*) et d'adapter son comportement (Nassar et al 2012, Preuschoff et al 2011). Par ailleurs, des traitements perturbant l'activité noradrénergique influent sur ces processus (Jepma et al 2018).

Ces propositions ont été reprises par Corbetta et collaborateurs dans leur théorie sur l'organisation des circuits attentionnels. Ces auteurs ont identifié deux réseaux impliqués dans la direction de l'attention (Corbetta et al 2000, Corbetta & Shulman 2002). Un réseau frontopariétal dorsal serait responsable d'une focalisation de l'attention vers l'élément d'intérêt de l'individu, permettant ainsi d'élaborer une réponse comportementale appropriée. Le deuxième réseau est un réseau frontopariétal ventral qui est activé par des stimuli inattendus et saillants. Son activation permettrait ainsi une réorientation de l'attention vers ces stimuli. Lorsque l'attention de l'individu est focalisée au cours d'une tâche, l'activité

du réseau ventral est 'filtrée' empêchant la réorientation de l'attention vers des éléments peu importants. Néanmoins, lorsqu'un stimulus est assez important pour activer le réseau ventral, ce dernier agit comme un interrupteur des signaux du réseau dorsal, changeant ainsi l'objet de l'attention (Corbetta & Shulman 2002). Les auteurs ont proposé que l'activité du réseau ventral soit associée à celle du système LC-NA. Comme nous l'avons vu en présentant les propositions de Bouret & Sara (2005) et Dayan & Yu (2006), les transitions au sein de la tâche et les événements inattendus activent ce système. Celui-ci engagerait le réseau ventral de l'attention, permettant ainsi une reconfiguration de l'activité dans le réseau dorsal et un traitement modifiée de l'information (Corbetta et al 2008). A l'inverse, lorsque l'engagement dans la tâche est maximal, l'activité noradrénergique tonique modérée permettrait l'inhibition du réseau ventral (Aston-Jones et al 1999).

c) Set-shifting

L'importance de l'activité noradrénergique pour la flexibilité comportementale est également mise en évidence par les données utilisant des tâches de *set shifting* (Birrell & Brown 2000) inspirés de la tâche de Wisconsin chez l'humain (Miyake et al 2000). Dans ce type de tâche, l'animal doit être capable de déterminer quel type (set) d'informations est pertinent afin d'ajuster sa réponse comportementale. Dans une des variantes de la tâche, les animaux sont entraînés à creuser dans des bols remplis d'un matériau meuble afin de récupérer une récompense alimentaire. Chaque bol est caractérisé par une combinaison d'une odeur et d'un milieu (sable, sciure, etc.). Seule l'une des deux dimensions, *i.e.* type d'indice (odeur ou milieu), est pertinente pour déterminer où se trouve la récompense. Au cours de la tâche, plusieurs capacités peuvent être évaluées en introduisant de nouvelles paires d'indices au sein de la même dimension (transition intra-dimensionnelle) ou en modifiant la dimension pertinente (transition extra-dimensionnelle). De plus, des inversions au sein de la même dimension peuvent être réalisées (*i.e.* odeur1+ odeur2- devient odeur1- et odeur2+). Dans cette tâche, une contribution distincte du dmPFC et de l'OFC a pu être établie. Le dmPFC joue un rôle crucial pour les transitions extra-dimensionnelles tandis que l'OFC est principalement impliqué dans les inversions et transitions intra-dimensionnelles (Birrell & Brown 2000, Chase et al 2012). Devauges & Sara (1990) ont montré l'effet facilitateur d'une stimulation de l'activité noradrénergique, *via* l'injection systémique d'un antagoniste des récepteurs α_2 , dans la transition extra-dimensionnelle. De manière plus précise, ce sont surtout les travaux de McGaughy et collaborateurs qui ont permis de montrer l'importance de l'innervation noradrénergique du PFC dans ces processus. La déplétion noradrénergique dans le mPFC reproduit le déficit causé par une lésion du dmPFC sur la transition extra-dimensionnelle (McGaughy et al 2008, Newman et al 2008). Cet effet délétère est contrecarré par une injection systémique d'atomoxetine à

une dose élevant spécifiquement la NA dans le PFC (Newman et al 2008). Par ailleurs, l'étude de Lapiz & Morilak (2006) suggère que l'amélioration de la transition extra-dimensionnelle par une élévation du niveau de NA soit permise par l'activation de récepteurs α_1 dans le dmPFC. De plus, une inactivation pharmacogénétique des projections du LC vers le dmPFC perturbent la transition extra-dimensionnelle (Cope et al 2019). Par ailleurs, une déplétion noradrénergique dans l'OFC induit un déficit lors d'inversions semblable à celui produit par la lésion de l'OFC (Mokler et al 2017). Il est de plus intéressant que des rats adolescents présentent des déficits semblables à ceux causés par la déplétion noradrénergique dans l'OFC et le dmPFC dans la tâche de *set shifting* (Mokler et al 2017). L'étude de Bradshaw et al (2016) a montré que la densité en NET est très élevée dans l'OFC et le dmPFC chez le jeune adolescent et décroît jusqu'à l'âge adulte. Une forte densité de NET peut suggérer un niveau bas de NA disponible et ainsi expliquer en partie les déficits présents chez l'animal adolescent.

A la lumière de tous ces éléments, il apparaît donc que le système LC-NA participe à de nombreuses fonctions. Néanmoins, il apparaît aussi qu'un élément central est son interaction avec le PFC et son implication dans l'adaptation comportementale. Face à des changements soudains dans l'environnement, l'activité noradrénergique semble permettre une flexibilité cognitive et comportementale.

IV) Objectifs de la thèse

Les régions frontales jouent un rôle déterminant dans le contrôle de l'action dirigée vers un but. En effet, alors que les régions médianes du cortex préfrontal sont déterminantes pour l'encodage des relations entre l'action et sa conséquence, les régions orbitofrontales du cortex préfrontal sont nécessaires à la mise à jour de ces relations lorsque l'identité de la conséquence est modifiée. Dans ces conditions de changement de l'environnement, l'acquisition des nouvelles connaissances engendre initialement et transitoirement une interférence entre l'ancien et le nouvel apprentissage. Dès lors, la levée de l'interférence requiert un mécanisme neurobiologique permettant de compartimenter les apprentissages sous-jacents, et conférant à l'animal la capacité de répondre de manière adaptée aux différentes situations. Par ailleurs, de nombreuses données et propositions théoriques attribuent un rôle central au système LC/NA dans la modulation des processus cognitifs de l'adaptation comportementale dépendants du PFC.

Dès lors, ce travail a visé à tester l'hypothèse selon laquelle les entrées noradrénergiques sur le cortex orbitofrontal constituent un mécanisme de contrôle neurobiologique majeur pour l'adaptation à des changements de contingences dans l'environnement.

Au plan expérimental, ce travail s'est organisé selon les trois temps suivants :

Chapitre 1 : Organisation anatomique des afférences noradrénergiques du cortex préfrontal

Il est connu de longue date que le cortex préfrontal est richement innervé par des entrées noradrénergiques provenant du Locus Cœruleus. Ces projections ont longtemps été considérées comme diffuses, innervant les zones corticales de manière uniforme. Des données récentes suggèrent néanmoins que ce n'est pas le cas et qu'au contraire l'innervation corticale provient de neurones distribués, innervant chacun des zones corticales distinctes.

En utilisant un marqueur spécifique (Dopamine- β -Hydroxylase), nous avons donc cherché à décrire et à quantifier les fibres noradrénergiques et les varicosités au sein de différentes régions du cortex orbitofrontal: Régions latérale (LO), ventrale (VO) et médiale (MO). Le long de l'axe antéro-postérieur, nous avons systématiquement contrasté l'innervation au sein du cortex orbitofrontal avec celle du cortex préfrontal médian (régions A32d, A32v et A25).

Chapitre 2: Contrôle noradrénergique de l'action dirigée vers un but

Dans un deuxième temps, nous avons cherché à délimiter le rôle des entrées noradrénergiques préfrontales dans l'action dirigée. Dans une série d'expériences utilisant des procédures comportementales bien validées au laboratoire (Fresno et al 2019, Parkes et al 2018), nous avons évalué l'impact de déplétions noradrénergiques sur le contrôle comportemental en situation initiale mais aussi en situation d'inversion d'identité de la récompense.

Plus précisément, nous avons cherché à déterminer **la spécificité de ce traitement à la fois au plan anatomique** (en comparant des déplétions centrées sur l'OFC ou le mPFC), **au plan temporel** (en comparant l'effet de déplétions réalisées avant ou après l'entraînement initial) **et enfin au plan neurochimique** (en comparant des déplétions incluant ou non les afférences dopaminergiques).

Chapitre 3: Rôle de la NA préfrontale dans le contrôle temporel de la flexibilité instrumentale

Dans le dernier temps de ce travail, nous avons cherché à préciser le moment durant lequel l'activité des entrées noradrénergiques sur le cortex orbitofrontal était nécessaire. Pour cela, nous avons opté pour des approches de pharmacogénétique. Néanmoins, la mise en œuvre de ces approches requiert une levée de verrous méthodologiques qui sont décrits dans le chapitre 3. Nous avons ainsi développé et évalué plusieurs stratégies d'intervention utilisant des outils viraux en configuration simple (à un virus floxé ou pas) ou intersectionnelle (à deux virus), chez des animaux sauvages ou transgéniques (TH-Cre).

CHAPITRE 1

Organisation anatomique des
afférences noradrénergiques du
cortex préfrontal

-Article 1: Distinct regional patterns in noradrenergic innervation of the rat prefrontal cortex

Chapitre 1 :

Organisation anatomique des afférences noradrénergiques du cortex préfrontal

1) Introduction

Comme mentionné précédemment, le LC est la source de l'innervation noradrénergique dans le cortex cérébral (Ungerstedt 1971). Les différentes méthodes de détection des fibres noradrénergiques ont permis de révéler une organisation homogène de l'innervation noradrénergique à travers les différentes aires corticales chez le rongeur. La densité de fibres est la plus forte au niveau de la couche superficielle I et décroît vers les couches plus profondes (Agster et al 2013, Audet et al 1988, Descarries et al 1977, Levitt & Moore 1978). Dans la couche I, les fibres ont une orientation parallèle à la surface corticale et progressent sur le plan médo-latéral. Les fibres des couches II à V ont une orientation davantage perpendiculaire ou oblique par rapport à la surface corticale. Les fibres de la couche VI progressent dans l'axe antéro-postérieur (Morrison et al 1978). C'est *via* cette couche VI que les afférences coeruleo-corticales progressent vers leurs « cibles » corticales au niveau desquelles les neurones vont s'orienter vers les couches superficielles jusqu'à la couche I où l'innervation se fait de manière médo-latérale (Figure 31A, B).

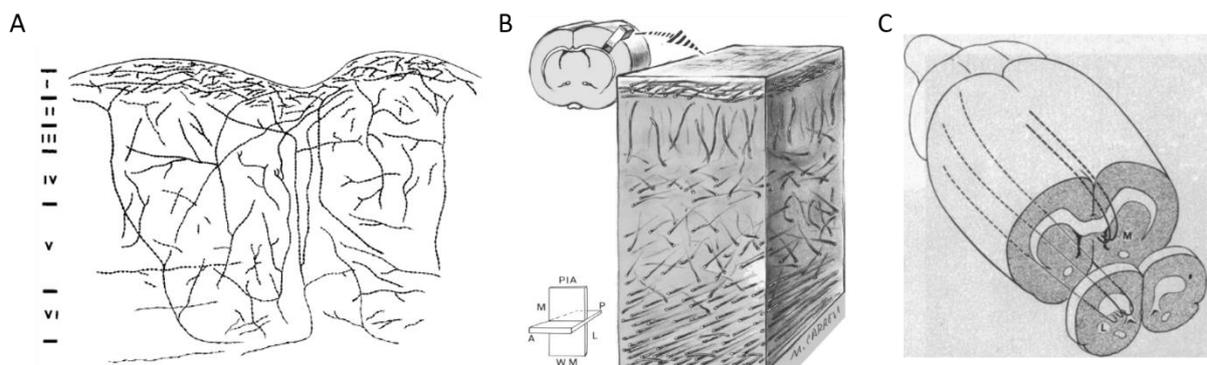


Figure 31. A. Représentation schématique de l'organisation corticale des fibres noradrénergiques sur un plan coronal. B. Représentation en trois dimensions. C. Schéma des deux voies distinctes innervant le cortex médian et le cortex latéral.

Les afférences coeruleo-corticales progressent au sein du cortex par l'intermédiaire de deux voies intracorticales distinctes (Figure 31C). La première remonte au niveau du genou du corps calleux et progresse en arrière, dorsalement par rapport au corps calleux, et innerve la partie médiane du cortex médian. La seconde progresse plus antérieurement et pénètre ventralement au niveau du forceps mineur. De la même façon, ces fibres progressent en arrière, innervant les parties dorso-latérales du cortex (Morrison et al 1978, Morrison et al 1979a). Néanmoins, à ce stade, la caractérisation précise de l'innervation de différentes aires préfrontales est restée peu précise. Des études plus récentes ont révélé des caractéristiques propres aux neurones projetant vers les aires préfrontales. Dans leur grande majorité, ces neurones projettent vers une seule aire préfrontale (mPFC ou OFC) à la fois (Chandler et al 2013). Les neurones projetant vers le PFC ne divergent pas non plus vers un cortex moteur. De plus, les neurones projetant vers les aires préfrontales ont des caractéristiques électrophysiologiques et moléculaires non partagées par les neurones projetant vers le cortex moteur (Chandler et al 2014). L'innervation noradrénergique, mesurée par la densité de varicosités, de différentes sous-régions préfrontales est supérieure au reste des aires corticales (Agster et al 2013). Ces données suggèrent que l'innervation noradrénergique du PFC revêt un caractère particulier. Ainsi, nous avons étudié l'innervation noradrénergique au sein de différentes sous-régions préfrontales, particulièrement dans l'OFC et le mPFC. Nous avons cherché à décrire plus précisément le pattern d'organisation de l'innervation noradrénergique au sein de leurs différentes sous-régions en prenant en compte leur dimension rostro-caudale.

Pour cette étude, afin de visualiser les fibres noradrénergiques nous avons procédé à un marquage immunohistochimique de la dopamine- β -hydroxylase sur des coupes de PFC chez le Rat. Par une méthode automatisée, développée par le Dr. Alain Marchand, nous avons pu quantifier les fibres et les varicosités le long de l'axe antéro-postérieur au sein de différentes aires de l'OFC (MO, VO et LO) et du mPFC identifiées selon la nouvelle nomenclature (A32d, A32v, A25) issue de l'atlas de Paxinos & Watson (2014).



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Chemical Neuroanatomy

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jchemneu



Distinct regional patterns in noradrenergic innervation of the rat prefrontal cortex



Juan-Carlos Cerpa^{a,b}, Alain R. Marchand^{a,b,1}, Etienne Coutureau^{a,b,*}

^aCNRS, Institut de Neurosciences Cognitives et Intégratives d'Aquitaine, UMR 5287, 33076 Bordeaux, France

^bUniversité de Bordeaux, 33076 Bordeaux, France

Abstract

The anatomy and functions of the rodent prefrontal cortex (PFC) have been extensively studied. It is now clear that the PFC is at the core of various executive functions and that these functions depend on monoaminergic neuromodulation. The PFC receives extensive projections from monoaminergic nuclei and, in particular, from the locus coeruleus (LC) which is the major source of noradrenaline (NA) in the cortex. Projections of this nucleus have long been considered to act diffusely and uniformly throughout the entire brain. However, recent studies have revealed a separate innervation of prefrontal sub-regions by non-collateralizing LC neurons, suggesting a specific modulation of their functions. Following this idea, we aimed at describing more precisely the pattern of noradrenergic innervation into different orbital (OFC) and medial (mPFC) sub-regions of the PFC. We focused on the lateral (LO), ventral (VO) and medial (MO) portions of the OFC, and on areas 32d (A32d), 32v (A32v) and 25 (A25) in the mPFC. Using Dopamine- β -Hydroxylase as a specific noradrenergic marker, we performed an automatic quantification of noradrenergic fibers and varicosities in each of these sub-regions. The results indicate that noradrenergic innervation is heterogeneous in some prefrontal sub-regions along the rostro-caudal axis. Functional dissociations have been recently reported in prefrontal sub-regions along the rostro-caudal direction. Our findings add neuroanatomical support to this emergent idea.

Keywords:

Prefrontal cortex
Noradrenaline
Orbitofrontal cortex
Prelimbic cortex
Infralimbic cortex
Neuroanatomy

1. Introduction

Seminal research has produced valuable descriptions of the neuroanatomy and functions of the prefrontal cortex (PFC) of humans, non-human primates and rodents (Carmichael and Price, 1995, 1996; Goldman and Nauta, 1977; Ongur and Price, 2000). In the rat, the PFC can be divided into several areas that include the medial prefrontal cortex (mPFC) and the orbitofrontal cortices (OFC) (Fuster, 2015; Heidbreder and Groenewegen, 2003; Hoover and Vertes, 2011; Laubach *et al.*, 2018; Uylings *et al.*, 2003; Vertes, 2004). These regions are critical actors underlying executive functions, including memory, attention, decision-making and behavioral flexibility (Dalley *et al.*, 2004; Schoenbaum *et al.*, 2009; Uylings *et al.*, 2003). Furthermore, recent studies point to an even greater parcellation, which could depend on the architecture of afferent and efferent patterns of connection along the anteroposterior and mediolateral axes (Bradfield *et al.*, 2018; Izquierdo, 2017; Killcross and Coutureau, 2003; Panayi and Killcross, 2018).

The function of these PFC regions (Arnsten, 2000; Arnsten *et al.*, 1999; Bouret and Sara, 2004; Lammel *et al.*, 2011; Ren *et al.*, 2018; Tronel *et al.*, 2004; Usher *et al.*, 1999) is known to be greatly influenced by the neuromodulatory actions of dopamine, serotonin (5-HT) and noradrenaline (NA) (Beier *et al.*, 2015; Chandler *et al.*, 2013; Hoover and Vertes, 2007; Linley *et al.*, 2013; Murphy and Deutch, 2018). In particular, the PFC receives extensive projections from the locus coeruleus (LC) in the brainstem, which is the major source of NA in the cortex (Berridge and Waterhouse, 2003; but see Robertson *et al.*, 2013). Earlier studies have shown an important and widespread noradrenergic innervation of various cortical regions (Foote *et al.*, 1983; Fuxe *et al.*, 1968; Levitt and Moore, 1978; Lewis and Morrison, 1989; Morrison *et al.*, 1978), which was thought to result from significant branching from single NA axons. This idea has been recently contradicted by data showing that individual LC neurons independently innervate different prefrontal regions (Chandler *et al.*, 2014; Chandler *et al.*, 2013; Keschull *et al.*, 2016; Uematsu *et al.*, 2017). However, the precise organization of NA innervation into the different orbitofrontal and medial regions along their rostro-caudal axis is not well documented.

With this in mind, we performed a detailed analysis of the different prefrontal sub-regions using an automatic quantification method. Our results show that noradrenergic innervation distributes homogeneously into most OFC and mPFC sub-regions. However, we found a specific pattern of innervation along the rostro-caudal axis of the most ventral part of the mPFC and the OFC suggesting a particular route for afferent noradrenergic fibers innervating different prefrontal subregions.

2. Material & Methods

2.1. Animals and housing conditions

A total of 11 male Long-Evans rats, aged 2-3 months, were obtained from Centre d'Élevage Janvier (France). Rats were housed in pairs. Environmental enrichment was provided by orange-tinted polycarbonate tubing elements. The facility was maintained at 21 ± 1 °C with lights on from 08:00 to 20:00. The animals of this study previously served as a control group in unpublished study and had received an intra-cerebral injection of an inactive form of saporin. As in our previous papers (see e.g. Parkes *et al.*, 2018), injection were made using a thin glass pipette which minimizes damage to the surrounding areas. As a result and as shown previously, there was no gliosis or any damage at the site of injection that could affect the observed pattern of results. The experiments were conducted in agreement with French (council directive 2013-118, February 1, 2013) and international (directive 2010-63, September 22, 2010, European Community) legislations and received approval # 5012053-A from the local Ethics Committee.

2.2. Immunohistochemistry

At the age of 5-6 months, rats were killed with an overdose of pentobarbital monosodic and perfused transcardially with 60 ml of saline followed by 260 ml of 4% paraformaldehyde (PFA) in 0.2 M phosphate buffer (PB). Brains were removed and postfixed in the same PFA solution overnight and then transferred to a 0.1M PB solution. Subsequently, 40 μ m coronal sections were cut using a VT1200S Vibratome (Leica Microsystems). Every fourth section was collected to form a series and immunoreactivity was

performed for Dopamine- β -Hydroxylase (DBH). Free-floating sections were first rinsed in phosphate buffer saline containing 0.3% Triton X-100 (PBST; 4x5 min) and then incubated in a blocking solution (PBST 3% containing 3% goat serum) for 1h. Sections were then incubated with mouse monoclonal anti-DBH antibody (1/10 000 in blocking solution, Millipore Bioscience Research Reagents) for 48h at 4 °C on a shaker. After further rinses in PBS 0.1 M (4x5 min), sections were placed for 2h in a bath containing biotinylated goat anti-mouse secondary antibody (1/1000 in PBST 0.3%, Jackson ImmunoResearch) for 90 min at room temperature. Following rinses in PBS 0.1 M (4x5 min), they were then incubated with avidin-biotin-peroxydase complex (1/200 in PBS 0.1 M, ThermoFisher Scientific) for 90 min at room temperature. The final staining was made with a diaminobenzidine (DAB, Sigma-Aldrich) and hydrogen peroxide solution. Sections were rinsed with Tris buffer 0.05 M and then PB 0.05 M. They were collected on gelatin-coated slides, dehydrated with xylene, mounted and coverslipped using Eukitt mounting medium.

2.3. Quantification of fiber density

Sections were scanned using a Nanozoomer slide scanner (Hamamatsu Photonics) with 20x lens and analyzed with the NDP.view 2 freeware (Hamamatsu Photonics). Digital microphotographs of regions of interest (ROI) in each hemisphere were examined under 20x. virtual lens. Each ROI was outlined according to Paxinos and Watson (2014). In the OFC, we examined both VO and LO at coordinates (AP+ from Bregma) +4.4, +3.7 and +3.0 and MO at coordinates +5.6, +5.1 and +4.4. In the mPFC, we examined both A32d (corresponding to dorsal portion of prelimbic cortex with very limited extension into cingulate cortex, according to Paxinos and Watson (2007)) and A32v (corresponding to ventral portion of prelimbic cortex) at coordinates +4.4, +3.7, +3.0. And at coordinates +3.0 and +2.5 for A25 (infralimbic cortex). For each section, we analyzed square windows (300 x 300 μ m, 1320 x 1320 pixels) corresponding to the different structures (Figure 1).

Quantification of DBH-positive fibers was performed using an automated method developed in the laboratory using ImageJ software (**Supplemental material S1**). To estimate the density of fibers in an area

of interest, a digitized version of the microphotograph was converted to black and white by combining blue, red and green channels with weights 1, -0.25 and -0.25, then subjected to a median filter (radius 3 pixels) in order to improve signal-to-noise ratio. It was then smoothed with a Gaussian filter (radius 8) and subtracted from the previous picture to isolate high spatial frequencies. Large stains were further eliminated by detecting them in a copy of the image. The picture was then subjected to a fixed threshold (grey level 11) to extract stained elements, and the relative volume occupied by fibers was estimated by the proportion of detected pixels in the ROI. As a control for poor focus, the same images were analyzed again while allowing lower spatial frequencies (Gaussian filter radius 20). The ratio between the proportions of pixels detected by the two methods was used as a criterion to eliminate blurry images (representing 1.2 % of total images).

Automated quantification of varicosities (**Supplemental material S2**) was performed on the blue channel of each image by smoothing the image with two different Gaussian filters (radius 5 and 2.5) and subtracting the results (Difference of Gaussians) in order to select blobs of the appropriate size. The result was then subjected to a fixed threshold (grey level 18). Highly stained spots of slightly more than 1 μm in diameter were detected, corresponding to enlargements (varicosities) on the DBH fibers (Figure 2). Like for fibers, our measure was the proportion of detected pixels in the ROI, since it appeared to be a more robust measure than the number of detected spots.

2.4. Data analyses

Measurements of the density of fibers and varicosities were analyzed via ANOVAs. The ratio of varicosities to fibers was also analyzed. Measurements from both hemispheres of the same animal were averaged at each anatomical level. Data from different antero-posterior coordinates were treated as repeated measures. ANOVAs were followed, when required, by Fisher's PLSD *post hoc* tests. Datasets for all regions of interest passed Shapiro-Wilk test for normality, with the exception of ratio data for VO where the results were confirmed using Kruskal-Wallis non parametric analysis. Analyses were

performed using Statview software (SAS institute). The α value for rejection of the null hypothesis for both ANOVAs and *post hoc* tests was fixed at 0.05. Data are presented as mean \pm SEM.

3. Results

Figure 1 shows the location of the various regions of interest on sections of the PFC at different coordinates (AP+ from Bregma). We used these coordinates to examine the distribution of DBH fibers along the rostro-caudal axis for each structure of interest.

Our automated method also provided the distribution of varicosities for each region of interest.

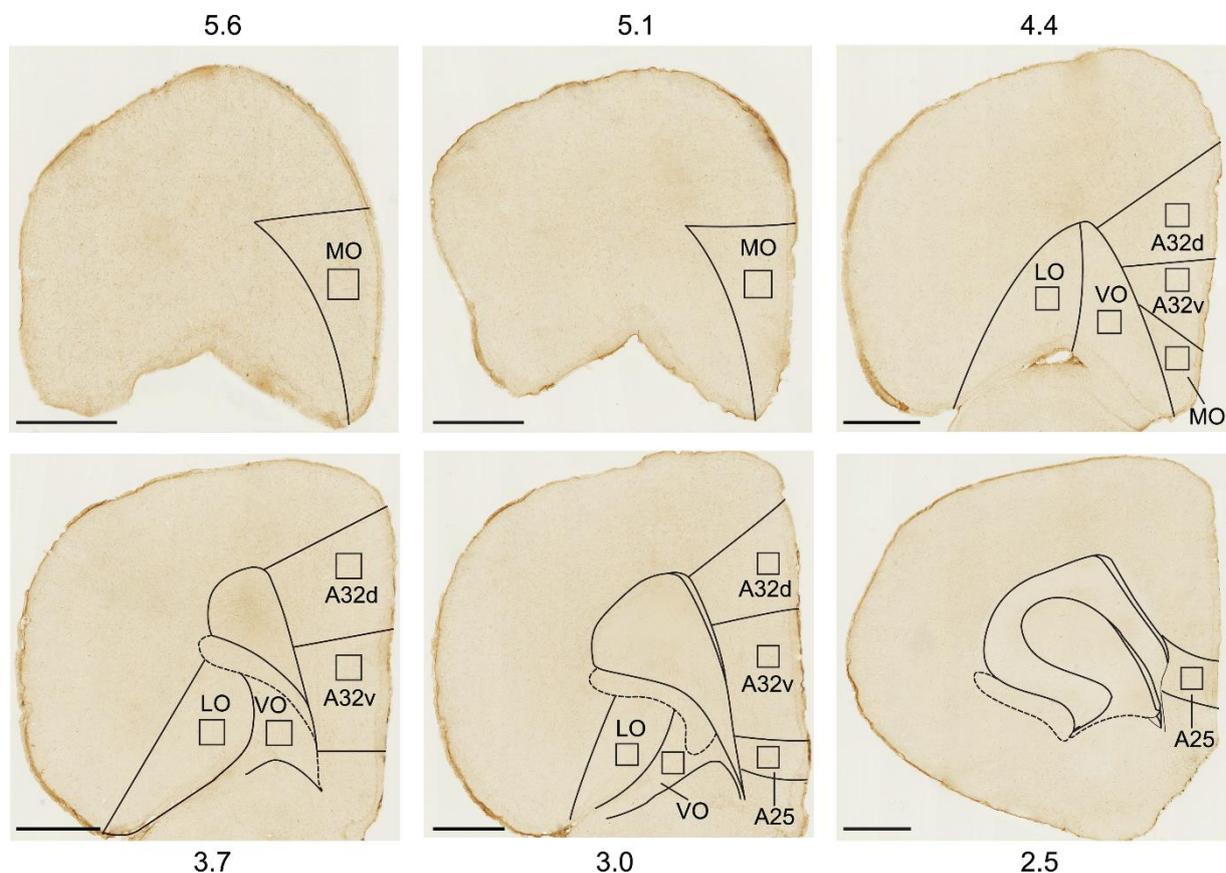


Figure 1. Delimitation of prefrontal sub-regions. Location of regions of interest on frontal sections at different coordinates (indicated by numbers above and under each microphotograph), anterior to Bregma. Coordinates are based on Paxinos and Watson (2014). Squares represent analyzed area. Scale bars = 1mm. (LO = lateral OFC; VO = ventral OFC; MO = medial OFC).

Figure 2 shows a representative case illustrating both treatments applied to original images (Figure 2A). The method identifies DBH fibers (Figure 2B), and highly stained spots (Figure 2C) corresponding to varicosities (Agster *et al.*, 2013).

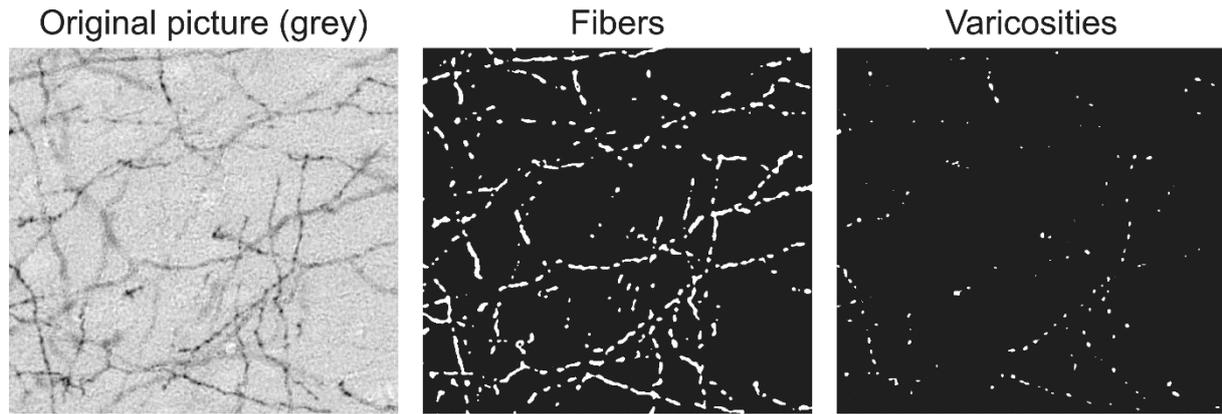


Figure 2. Example of fibers and varicosities extraction by automated treatments. Illustration of images obtained after both automated treatments applied to the original picture. First treatment allows extraction of fibers signal in white pixels. Second treatment permits extraction of highly stained spots corresponding to varicosities in white pixels. Scale bar = 50 μ m.

3.1. Pattern of NA innervation in the OFC

We first examined the distribution of noradrenergic fibers into the MO, LO and VO along the rostro-caudal axis. Figure 3A shows the density of DBH-immunoreactive fibers for each region at different levels anterior to Bregma (AP+4.4; AP+3.7; AP+3.0 for LO & VO and AP+5.6; AP+5.1; AP+4.4 for MO). Representative images are shown in Figure 3C. Analyses highlighted the homogeneity of distribution of DBH fibers along the antero-posterior axis for both MO ($F_{(2,14)} = 0.49$; ns) and LO ($F_{(2,20)} = 0.91$; ns) but not for VO ($F_{(2,20)} = 25.561$; $p < 0.0001$). Post hoc analyses revealed significant differences between AP+4.4 and both AP+3.7 ($p < 0.0001$) and AP+3.0 ($p < 0.0001$) and between AP+3.7 and AP+3.0 ($p = 0.04$) for VO, indicating an increasing gradient of DBH fibers from the anterior part to the most posterior part. Comparison between VO and LO at the same three coordinates shows an effect of Region ($F_{(1,10)} = 22.158$; $p = 0.0008$), an effect of Coordinates ($F_{(2,20)} = 11.089$; $p = 0.0006$) and an interaction between Region and Coordinates ($F_{(2,20)} = 36.855$; $p < 0.0001$), indicating a different distribution of DBH fibers into these two regions.

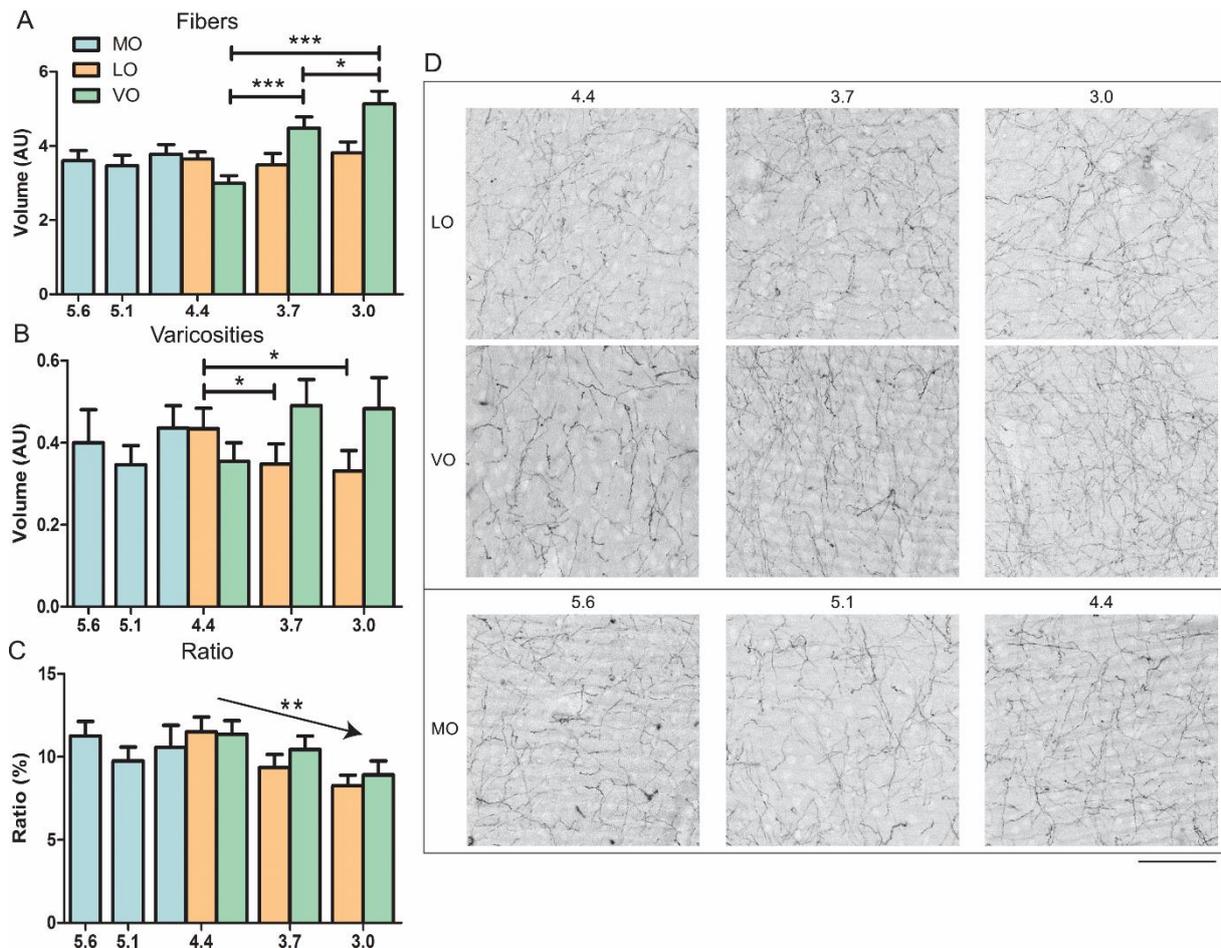


Figure 3. Pattern of noradrenergic innervation in OFC sub-regions. (A) Quantification of DBH-stained fibers in MO (blue bars), LO (orange bars) and VO (green bars) at different antero-posterior coordinates taken from Bregma (Paxinos and Watson, 2014). (B) Similar quantification of varicosities in the same sub-regions and at the same coordinates. (C) Ratio between varicosities and DBH-stained fibers at each coordinate. (D) Representative microphotographs of DBH-stained fibers for each sub-region along the rostro-caudal axis. * $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$; *** $p \leq 0.001$. Scale bar = 100 μm .

In addition, we also performed these analyses for highly stained spots corresponding to varicosities. Results are shown in Figure 3B. ANOVAs for same regions revealed an effect of Coordinates for LO ($F_{(2,20)} = 3.602$; $p = 0.04$). Post hoc analysis indicated a significant difference between AP+4.4 and both AP+3.7 ($p = 0.04$) and AP+3.0 ($p = 0.02$). No effect of Coordinates was found for MO ($F_{(2,14)} = 0.605$; ns). Surprisingly, the statistical analysis showed no significant effect of Coordinates for VO ($F_{(2,20)} = 2.247$; ns), despite an observable increase of DBH spots density at AP+3.7 and AP+3.0. However, ANOVA analyses on VO and LO revealed a decrease in the ratio varicosities/fibers along their antero-posterior axis (Figure 3C, $F_{(2,20)} = 5.949$; $p = 0.0094$) with no effect of Region ($F_{(1,10)} = 4.542$; ns). These results suggest the presence of a higher number of fibers of passage, presenting fewer varicosities, at the most caudal portion of VO.

3.2. Pattern of NA innervation in the mPFC

Figure 4A shows the density of DBH-immunoreactive fibers for three regions of the mPFC (A32d, A32v and A25) at different levels anterior to Bregma (AP+3.0; AP+2.5 for A25 and AP+4.4; AP+3.7; AP+3.0 for both A32d and A32v). Representative images are shown in Figure 3B. The ANOVA revealed an homogenous density of DBH-stained fibers along the rostro-caudal axis of A32d ($F_{(2,18)} = 1.221$; ns) and A32v ($F_{(2,18)} = 0.04$; ns). Further analyses comparing both structures with Coordinates and Region as factors showed neither an effect of Region ($F_{(1,8)} = 0.686$; ns) or Coordinates ($F_{(2,16)} = 0.413$; ns) and no Region x Coordinates interaction ($F_{(2,16)} = 3.157$; ns), indicating a stable and equivalent distribution of DBH-fibers along the rostro-caudal axis in each of these two regions. By contrast, an effect of Coordinates was found for A25 ($F_{(1,10)} = 9.959$; $p = 0.0102$).

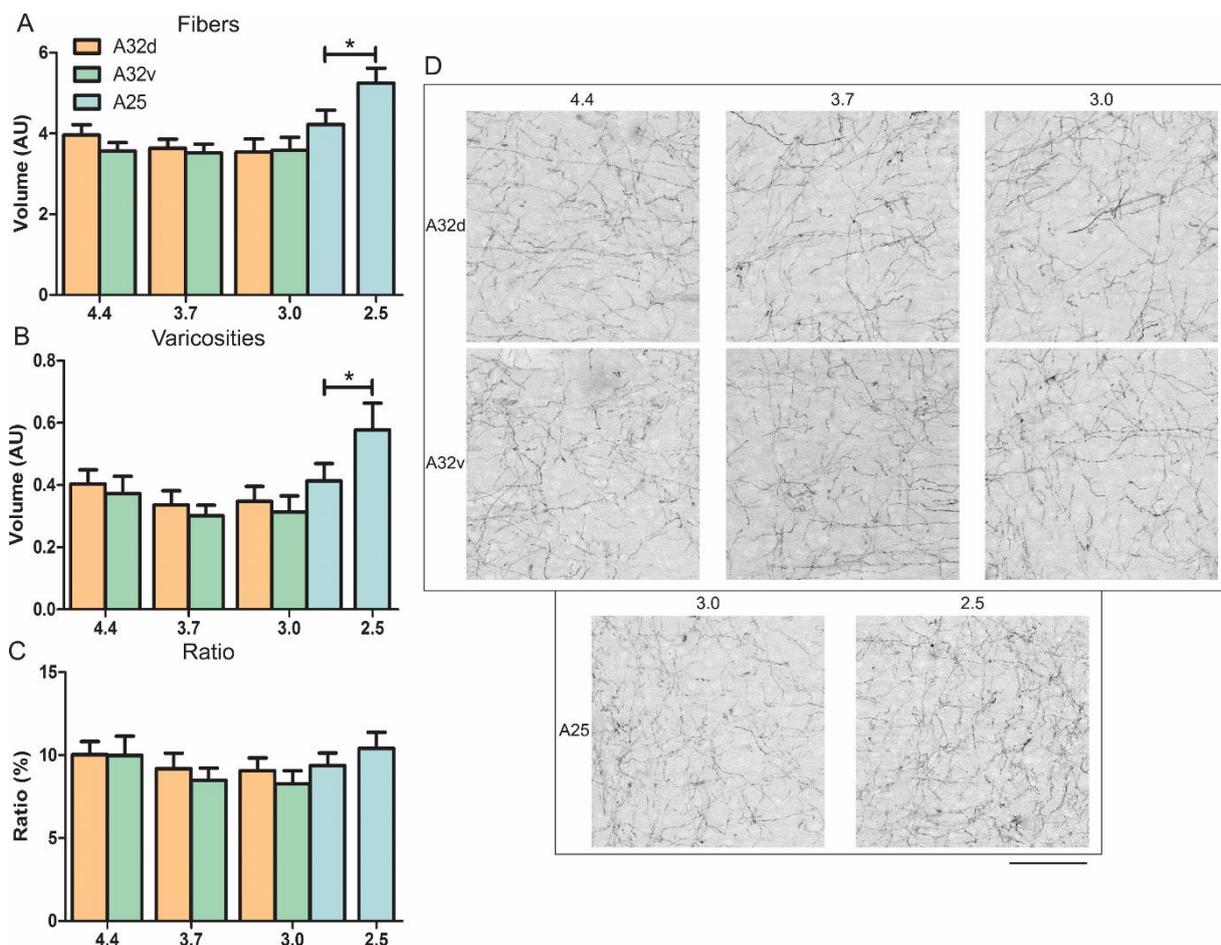


Figure 4. Pattern of noradrenergic innervation in mPFC sub-regions. (A) Quantification of DBH-stained fibers in A32d (orange bars), A32v (green bars) and A25 (blue bars) at different antero-posterior coordinates taken from Bregma (Paxinos and Watson, 2014). (B) Similar quantification of varicosities in the same sub-regions and at the same coordinates. (C) Ratio between varicosities and DBH-stained fibers at each coordinate (D) Representative microphotographs of DBH-stained fibers for each sub-region along the rostro-caudal axis. * $p < 0.05$. Scale bar = 100 μ m.

Complementary analyses (Figure 4B) showed homogeneity of varicosities along the rostro-caudal axis of A32d ($F_{(2,19)} = 0.946$; ns) and A32v ($F_{(2,18)} = 1.158$; ns) but not A25 ($F_{(1,10)} = 5.451$; $p = 0.04$). Analysis of the ratio varicosities/DBH-fibers (Figure 4C) in A32d and A32v showed no effect of Coordinates ($F_{(2,16)} = 1.170$; ns) or Region ($F_{(1,8)} = 2.649$; ns). The ratio was also constant in A25 where we found no effect of Coordinates ($F_{(1,10)} = 1.172$; ns).

4. Discussion

Using detection of DBH-immunoreactive fibers, the present study shows a distinctive pattern of NA innervation of the rat PFC. DBH fibers volume occupancy was relatively uniform when compared between prefrontal regions at the same level of the rostro-caudal axis. However, when examining each area along the rostro-caudal axis, we found a specific gradient of innervation for both VO and A25 (infralimbic cortex). Moreover, the ratio of varicosities to fibers decreased caudally in both VO and LO regions. These results have important implications for our understanding of the prefrontal areas which are detailed below.

4.1. Methodological considerations

While the intensity and specificity of DBH detection may vary according to each particular antibody, the anti-DBH antibody used in this study only marked regions classically reported to receive noradrenergic innervation, and the morphology of immunoreactive fibers and varicosities was consistent with that of earlier reports (Agster *et al.*, 2013; Grzanna *et al.*, 1977; Lewis and Morrison, 1989; Morrison *et al.*, 1979).

In the present study, we deliberately used the regional boundaries defined in the latest Paxinos and Watson atlas (Paxinos and Watson, 2014). The choice of using new and not previous boundaries, which included prelimbic and infralimbic terms (Paxinos and Watson, 2007), is based on evidence for homologies among medial parts of the PFC, especially the anterior cingulate cortex (ACC), in rodents,

humans, and monkeys (Vogt, 1993; Vogt *et al.*, 2013; Vogt and Paxinos, 2014). In order to obtain the best possible fit between each micrograph and the diagrams provided by the atlas, we used multiple anatomical landmarks thus allowing to pool data from several subjects while minimizing imprecision concerning the boundaries of the sub-regions. For each region of interest, we avoided both superficial and deep layers and restricted our analyses to a central portion where DBH staining was homogeneous, in order to compare the density of fibers along the rostro-caudal axis. The automated analysis employed here is much less labor intensive than the stereological method. Instead of focusing on the numerical density of varicosities (Agster *et al.*, 2013), our method can provide an estimate of both the relative volume occupied by fibers (Naneix *et al.*, 2012; Naneix *et al.*, 2013) and by varicosities, which potentially yield distinct information. Nevertheless, we cannot present our data as a strict quantification of noradrenergic innervation in prefrontal regions. Rather, we aimed to highlight the rostro-caudal distribution of noradrenergic inputs into different sub-regions of medial and orbital portions of the PFC.

4.2. Patterns of rostro-caudal distribution

Our data largely agree with previous research in both rodents and primates, which suggest that noradrenergic innervation of the cortex is largely diffuse and homogeneous (Schwarz *et al.*, 2015). The density of varicosities has been reported to be higher in prefrontal regions than in other cortical regions (Agster *et al.*, 2013), suggesting that noradrenergic modulation plays a specific role in the PFC (Aston-Jones and Cohen, 2005; Bouret and Sara, 2005). Many of the fibers in these regions run in the frontal plane for tens or hundreds of micrometers and present many varicosities (Figures 2-4), which may indicate that they are involved in distributing NA locally (Papadopoulos and Parnavelas, 1991). When considering each area of the PFC globally, we found little overall differences in the amount of innervation from LC. However, the main finding of the present study is the observation of a subtle rostro-caudal gradient of NA innervation in both the orbitofrontal and medial frontal regions.

In the medial regions, NA innervation appears homogenous in the dorsal (A32) but not in the ventral portion (A25), where DBH fibers volume occupancy is higher at most caudal levels. Such a pattern is also

found when the amount of varicosities is considered. The constant ratio between varicosities and fibers found in A25 strongly suggests that the rostro-caudal gradient in density is not due to fibers of passage. Rather, the noradrenergic innervation appears intrinsically more important in the posterior part of A25 than in the anterior part, so that NA action might markedly differ. Interestingly, an opposite gradient in dopaminergic innervation has been reported in the same region (Naneix *et al.*, 2013), which points to important functional differences in this region along the rostro-caudal axis.

In orbitofrontal regions, the NA innervation appears homogenous in the medial and lateral portions. However, our results demonstrate a distinctive pattern in the VO where DBH fibers volume occupancy is higher in the most caudal portion, as in A25. Interestingly however, the ratio between varicosities and fiber occupancy decreases as one moves caudally in both VO and LO. A low ratio of varicosities to fibers may be an indication of a larger proportion of fibers of passage.

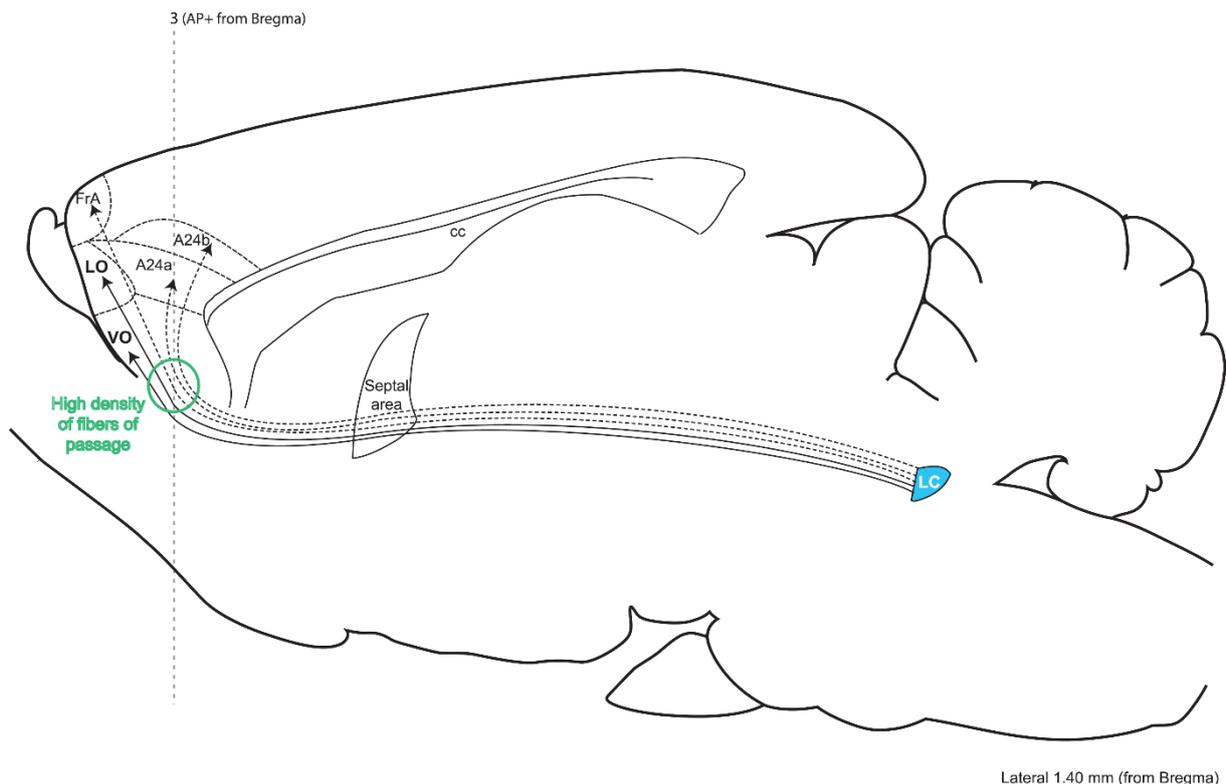


Figure 5. Scheme of a prefrontal noradrenergic innervation. Schematic representation of possible trajectories of noradrenergic afferents originating in the locus coeruleus and crossing VO. Lateral coordinate is taken from Bregma (Paxinos and Watson, 2014). Increase in varicosities proportion at more anterior levels is due to decrease in number of fibers of passage. Dotted arrows represent noradrenergic prefrontal innervation not studied in this work.

The distinct pattern of NA innervation in VO and A25 might result from their specific location in relation to the trajectory of ascending noradrenergic neurons. Past research has suggested that different noradrenergic ascending pathways reach the cerebral cortex. Both the mPFC and the MO/VO are innervated by the medial pathway that runs through the septum and curves over the genu of the corpus callosum (Morrison *et al.*, 1981). A more lateral projection leaves the medial forebrain bundle and proceeds laterally to innervate lateral cortical areas in longitudinal strips. It is therefore likely that an important number of fibers of passage cross orbital regions to reach more dorsal and lateral sub-regions. Thus, the increasing ratio of varicosities to fibers that we observe rostrally may be attributed to a reduction in the number of fibers of passage as they stop upon reaching their target.

In order to contrast the results obtained when looking at intermediate laminae, we performed the same analysis in more superficial layers of A32v and A25 as representative cases. Indeed, earlier studies reported a stronger innervation in superficial layers of medial cortices (Agster *et al.*, 2013; Audet *et al.*, 1988; Descarries *et al.*, 1977; Fuxe *et al.*, 1968). In both A32v and A25, we also observed a stronger innervation in superficial layers. Moreover our results yielded a pattern of fiber distribution similar to that obtained in intermediate layers, suggesting that the rostro-caudal distribution of noradrenergic afferents holds across layers.

4.3. Functional Implications

In the present study, we provide anatomical evidence for a dissociation in the distribution of fibers and varicosities. Varicosities are swellings with high DBH concentration in which NA could be stored and released via en passant synapses or allowing volume transmission without synaptic contact (Agnati *et al.*, 1995; Chiti and Teschemacher, 2007; Descarries and Mechawar, 2000; Miner *et al.*, 2003). Activity, and therefore function, of each sub-region could then be modulated by such a mechanism in specific ways in accordance with recent propositions (Agster *et al.*, 2013; Chandler and Waterhouse, 2012; Sadacca *et al.*, 2016).

There is a growing body of evidence that the prefrontal cortex is innervated by heterogeneous pools of LC neurons with largely non-overlapping efferent connectivity (Chandler *et al.*, 2013; Uematsu *et al.*, 2017). In parallel, current research has demonstrated a definite parcellation of the functions subserved by the different regions (Coutureau and Parkes, 2018) in both the mPFC (Coutureau *et al.*, 2012; Killcross and Coutureau, 2003) and the OFC (Bradfield *et al.*, 2015; Parkes *et al.*, 2018). Moreover, a recent study provided evidence for a functional dissociation between anterior and posterior regions of the MO (Bradfield *et al.*, 2018). While we did not observe corresponding anatomical differences in MO, other prefrontal regions such as A25 clearly show a heterogeneous NA innervation along the rostro-caudal axis. The present results thus add to this field by providing anatomical evidence that NA transmission might be substantially different both within and between prefrontal regions.

ACKNOWLEDGEMENTS

The microscopy was completed at the Bordeaux Imaging Center, a service unit of CNRS-INSERM and Bordeaux University and member of the national infrastructure, France BioImaging. We thank Y. Salafranque for the care provided to the rats during experiments. The authors wish also to thank Drs Shauna Parkes and Mathieu Wolff for their useful comments on an earlier version of this manuscript.

FUNDING

This work was supported by the French National Research Agency (grant number ANR-14-CE13-0014 GOAL to E.C); and by the Fondation pour la Recherche Médicale (FRM grant number ECO20160736024 to J-C.C).

References

- Agnati, L.F., Zoli, M., Stromberg, I., Fuxe, K., 1995. Intercellular communication in the brain: wiring versus volume transmission. *Neuroscience* 69, 711-726.
- Agster, K.L., Mejias-Aponte, C.A., Clark, B.D., Waterhouse, B.D., 2013. Evidence for a regional specificity in the density and distribution of noradrenergic varicosities in rat cortex. *J Comp Neurol* 521, 2195-2207.
- Arnsten, A.F., 2000. Through the looking glass: differential noradrenergic modulation of prefrontal cortical function. *Neural Plast* 7, 133-146.
- Arnsten, A.F., Mathew, R., Ubriani, R., Taylor, J.R., Li, B.M., 1999. Alpha-1 noradrenergic receptor stimulation impairs prefrontal cortical cognitive function. *Biological Psychiatry* 45, 26-31.
- Aston-Jones, G., Cohen, J.D., 2005. An integrative theory of locus coeruleus-norepinephrine function: adaptive gain and optimal performance. *Annu Rev Neurosci* 28, 403-450.
- Audet, M.A., Doucet, G., Oleskevich, S., Descarries, L., 1988. Quantified regional and laminar distribution of the noradrenaline innervation in the anterior half of the adult rat cerebral cortex. *J Comp Neurol* 274, 307-318.
- Beier, K.T., Steinberg, E.E., DeLoach, K.E., Xie, S., Miyamichi, K., Schwarz, L., Gao, X.J., Kremer, E.J., Malenka, R.C., Luo, L., 2015. Circuit Architecture of VTA Dopamine Neurons Revealed by Systematic Input-Output Mapping. *Cell* 162, 622-634.
- Berridge, C.W., Waterhouse, B.D., 2003. The locus coeruleus-noradrenergic system: modulation of behavioral state and state-dependent cognitive processes. *Brain Res Brain Res Rev* 42, 33-84.
- Bouret, S., Sara, S.J., 2004. Reward expectation, orientation of attention and locus coeruleus-medial frontal cortex interplay during learning. *J Neurosci* 24, 791-802.
- Bouret, S., Sara, S.J., 2005. Network reset: a simplified overarching theory of locus coeruleus noradrenaline function. *Trends Neurosci* 28, 574-582.
- Bradfield, L.A., Dezfouli, A., van Holstein, M., Chieng, B., Balleine, B.W., 2015. Medial Orbitofrontal Cortex Mediates Outcome Retrieval in Partially Observable Task Situations. *Neuron* 88, 1268-1280.
- Bradfield, L.A., Hart, G., Balleine, B.W., 2018. Inferring action-dependent outcome representations depends on anterior but not posterior medial orbitofrontal cortex. *Neurobiology of Learning and Memory*.
- Carmichael, S.T., Price, J.L., 1995. Sensory and premotor connections of the orbital and medial prefrontal cortex of macaque monkeys. *J Comp Neurol* 363, 642-664.
- Carmichael, S.T., Price, J.L., 1996. Connectional networks within the orbital and medial prefrontal cortex of macaque monkeys. *J Comp Neurol* 371, 179-207.
- Chandler, D., Waterhouse, B.D., 2012. Evidence for broad versus segregated projections from cholinergic and noradrenergic nuclei to functionally and anatomically discrete subregions of prefrontal cortex. *Front Behav Neurosci* 6, 20.
- Chandler, D.J., Gao, W.J., Waterhouse, B.D., 2014. Heterogeneous organization of the locus coeruleus projections to prefrontal and motor cortices. *Proc Natl Acad Sci U S A* 111, 6816-6821.
- Chandler, D.J., Lamperski, C.S., Waterhouse, B.D., 2013. Identification and distribution of projections from monoaminergic and cholinergic nuclei to functionally differentiated subregions of prefrontal cortex. *Brain Res* 1522, 38-58.
- Chiti, Z., Teschemacher, A.G., 2007. Exocytosis of norepinephrine at axon varicosities and neuronal cell bodies in the rat brain. *FASEB J* 21, 2540-2550.
- Coutureau, E., Esclassan, F., Di Scala, G., Marchand, A.R., 2012. The role of the rat medial prefrontal cortex in adapting to changes in instrumental contingency. *PLoS One* 7, e33302.
- Coutureau, E., Parkes, S.L., 2018. Cortical Determinants of Goal-Directed Behavior, In: Morris, R., Bornstein, A., Shenhav, A. (Eds.), *Goal-Directed Decision Making*. Academic Press, pp. 179-197.
- Dalley, J.W., Cardinal, R.N., Robbins, T.W., 2004. Prefrontal executive and cognitive functions in rodents: neural and neurochemical substrates. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 28, 771-784.

- Descarries, L., Mechawar, N., 2000. Ultrastructural evidence for diffuse transmission by monoamine and acetylcholine neurons of the central nervous system. *Prog Brain Res* 125, 27-47.
- Descarries, L., Watkins, K.C., Lapierre, Y., 1977. Noradrenergic axon terminals in the cerebral cortex of rat. III. Topometric ultrastructural analysis. *Brain Res* 133, 197-222.
- Foote, S.L., Bloom, F.E., Aston-Jones, G., 1983. Nucleus locus ceruleus: new evidence of anatomical and physiological specificity. *Physiol Rev* 63, 844-914.
- Fuster, J.M., 2015. Anatomy of the Prefrontal Cortex, In: Fuster, J.M. (Ed.), *The Prefrontal Cortex* (Fifth Edition). Academic Press, pp. 9-62.
- Fuxe, K., Hamberger, B., Hokfelt, T., 1968. Distribution of noradrenaline nerve terminals in cortical areas of the rat. *Brain Res* 8, 125-131.
- Goldman, P.S., Nauta, W.J., 1977. Columnar distribution of cortico-cortical fibers in the frontal association, limbic, and motor cortex of the developing rhesus monkey. *Brain Res* 122, 393-413.
- Grzanna, R., Morrison, J.H., Coyle, J.T., Molliver, M.E., 1977. The immunohistochemical demonstration of noradrenergic neurons in the rat brain: The use of homologous antiserum to dopamine-beta-hydroxylase. *Neurosci Lett* 4, 127-134.
- Heidbreder, C.A., Groenewegen, H.J., 2003. The medial prefrontal cortex in the rat: evidence for a dorso-ventral distinction based upon functional and anatomical characteristics. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 27, 555-579.
- Hoover, W.B., Vertes, R.P., 2007. Anatomical analysis of afferent projections to the medial prefrontal cortex in the rat. *Brain Struct Funct* 212, 149-179.
- Hoover, W.B., Vertes, R.P., 2011. Projections of the medial orbital and ventral orbital cortex in the rat. *J Comp Neurol* 519, 3766-3801.
- Izquierdo, A., 2017. Functional Heterogeneity within Rat Orbitofrontal Cortex in Reward Learning and Decision Making. *J Neurosci* 37, 10529-10540.
- Kebschull, J.M., Garcia da Silva, P., Reid, A.P., Peikon, I.D., Albeanu, D.F., Zador, A.M., 2016. High-Throughput Mapping of Single-Neuron Projections by Sequencing of Barcoded RNA. *Neuron* 91, 975-987.
- Killcross, S., Coutureau, E., 2003. Coordination of actions and habits in the medial prefrontal cortex of rats. *Cerebral Cortex* 13, 400-408.
- Lammel, S., Ion, D.I., Roeper, J., Malenka, R.C., 2011. Projection-specific modulation of dopamine neuron synapses by aversive and rewarding stimuli. *Neuron* 70, 855-862.
- Laubach, M., Amarante, L.M., Swanson, K., White, S.R., 2018. What, If Anything, Is Rodent Prefrontal Cortex? *eNeuro* 5.
- Levitt, P., Moore, R.Y., 1978. Noradrenaline neuron innervation of the neocortex in the rat. *Brain Res* 139, 219-231.
- Lewis, D.A., Morrison, J.H., 1989. Noradrenergic innervation of monkey prefrontal cortex: a dopamine-beta-hydroxylase immunohistochemical study. *J Comp Neurol* 282, 317-330.
- Linley, S.B., Hoover, W.B., Vertes, R.P., 2013. Pattern of distribution of serotonergic fibers to the orbitomedial and insular cortex in the rat. *J Chem Neuroanat* 48-49, 29-45.
- Miner, L.H., Schroeter, S., Blakely, R.D., Sesack, S.R., 2003. Ultrastructural localization of the norepinephrine transporter in superficial and deep layers of the rat prelimbic prefrontal cortex and its spatial relationship to probable dopamine terminals. *J Comp Neurol* 466, 478-494.
- Morrison, J.H., Grzanna, R., Molliver, M.E., Coyle, J.T., 1978. The distribution and orientation of noradrenergic fibers in neocortex of the rat: an immunofluorescence study. *J Comp Neurol* 181, 17-39.
- Morrison, J.H., Molliver, M.E., Grzanna, R., Coyle, J.T., 1979. Noradrenergic innervation patterns in three regions of medial cortex: an immunofluorescence characterization. *Brain Res Bull* 4, 849-857.
- Morrison, J.H., Molliver, M.E., Grzanna, R., Coyle, J.T., 1981. The intra-cortical trajectory of the coeruleo-cortical projection in the rat: a tangentially organized cortical afferent. *Neuroscience* 6, 139-158.
- Murphy, M.J.M., Deutch, A.Y., 2018. Organization of afferents to the orbitofrontal cortex in the rat. *J Comp Neurol* 526, 1498-1526.

- Naneix, F., Marchand, A.R., Di Scala, G., Pape, J.R., Coutureau, E., 2012. Parallel maturation of goal-directed behavior and dopaminergic systems during adolescence. *J Neurosci* 32, 16223-16232.
- Naneix, F., Marchand, A.R., Pichon, A., Pape, J.R., Coutureau, E., 2013. Adolescent stimulation of D2 receptors alters the maturation of dopamine-dependent goal-directed behavior. *Neuropsychopharmacology* 38, 1566-1574.
- Ongur, D., Price, J.L., 2000. The organization of networks within the orbital and medial prefrontal cortex of rats, monkeys and humans. *Cerebral Cortex* 10, 206-219.
- Panayi, M.C., Killcross, S., 2018. Functional heterogeneity within the rodent lateral orbitofrontal cortex dissociates outcome devaluation and reversal learning deficits. *Elife* 7.
- Papadopoulos, G.C., Parnavelas, J.G., 1991. Monoamine systems in the cerebral cortex: evidence for anatomical specificity. *Prog Neurobiol* 36, 195-200.
- Parkes, S.L., Ravassard, P.M., Cerpa, J.C., Wolff, M., Ferreira, G., Coutureau, E., 2018. Insular and Ventrolateral Orbitofrontal Cortices Differentially Contribute to Goal-Directed Behavior in Rodents. *Cerebral Cortex* 28, 2313-2325.
- Paxinos, G., Watson, C., 2007. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates* (Sixth Edition). Academic Press.
- Paxinos, G., Watson, C., 2014. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates* (Seventh edition). Academic Press.
- Ren, J., Friedmann, D., Xiong, J., Liu, C.D., Ferguson, B.R., Weerakkody, T., DeLoach, K.E., Ran, C., Pun, A., Sun, Y., Weissbourd, B., Neve, R.L., Huguenard, J., Horowitz, M.A., Luo, L., 2018. Anatomically Defined and Functionally Distinct Dorsal Raphe Serotonin Sub-systems. *Cell*.
- Robertson, S.D., Plummer, N.W., de Marchena, J., Jensen, P., 2013. Developmental origins of central norepinephrine neuron diversity. *Nat Neurosci* 16, 1016-1023.
- Sadacca, B.F., Wikenheiser, A.M., Schoenbaum, G., 2016. Toward a theoretical role for tonic norepinephrine in the orbitofrontal cortex in facilitating flexible learning. *Neuroscience*.
- Schoenbaum, G., Roesch, M.R., Stalnaker, T.A., Takahashi, Y.K., 2009. A new perspective on the role of the orbitofrontal cortex in adaptive behaviour. *Nat Rev Neurosci* 10, 885-892.
- Schwarz, L.A., Miyamichi, K., Gao, X.J., Beier, K.T., Weissbourd, B., DeLoach, K.E., Ren, J., Ibanes, S., Malenka, R.C., Kremer, E.J., Luo, L., 2015. Viral-genetic tracing of the input-output organization of a central noradrenaline circuit. *Nature* 524, 88-92.
- Tronel, S., Feenstra, M.G., Sara, S.J., 2004. Noradrenergic action in prefrontal cortex in the late stage of memory consolidation. *Learn Mem* 11, 453-458.
- Uematsu, A., Tan, B.Z., Ycu, E.A., Cuevas, J.S., Koivumaa, J., Junyent, F., Kremer, E.J., Witten, I.B., Deisseroth, K., Johansen, J.P., 2017. Modular organization of the brainstem noradrenaline system coordinates opposing learning states. *Nat Neurosci* 20, 1602-1611.
- Usher, M., Cohen, J.D., Servan-Schreiber, D., Rajkowski, J., Aston-Jones, G., 1999. The role of locus coeruleus in the regulation of cognitive performance. *Science* 283, 549-554.
- Uylings, H.B., Groenewegen, H.J., Kolb, B., 2003. Do rats have a prefrontal cortex? *Behav Brain Res* 146, 3-17.
- Vertes, R.P., 2004. Differential projections of the infralimbic and prelimbic cortex in the rat. *Synapse* 51, 32-58.
- Vogt, B.A., 1993. Structural Organization of Cingulate Cortex: Areas, Neurons, and Somatodendritic Transmitter Receptors, In: Vogt, B.A., Gabriel, M. (Eds.), *Neurobiology of Cingulate Cortex and Limbic Thalamus: A Comprehensive Handbook*. Birkhäuser Boston, Boston, MA, pp. 19-70.
- Vogt, B.A., Hof, P.R., Zilles, K., Vogt, L.J., Herold, C., Palomero-Gallagher, N., 2013. Cingulate area 32 homologies in mouse, rat, macaque and human: cytoarchitecture and receptor architecture. *J Comp Neurol* 521, 4189-4204.
- Vogt, B.A., Paxinos, G., 2014. Cytoarchitecture of mouse and rat cingulate cortex with human homologies. *Brain Struct Funct* 219, 185-192.

Supplementary material

Supplemental material S1. Automated method for fibers extraction in ImageJ software

```
// save file name for results
name=getTitle();run("Rename...", "title=full");
run("Set Measurements...", "area mean redirect=None decimal=3");
// extract blue component in ROI
run("Split Channels");
// subtract part of red and green
selectWindow("full (red)");run("Multiply...", "value=0.25");
selectWindow("full (green)");run("Multiply...", "value=0.25");
imageCalculator("Subtract", "full (blue)", "full (red)");
imageCalculator("Subtract", "full (blue)", "full (green)");
selectWindow("full (green)");close();
selectWindow("full (red)");close();
// select ROI 300x300µm
makeRectangle(790, 144, 1320, 1320);
run("Duplicate...", " ");run("Rename...", "title=data");
selectWindow("full (blue)");close();
// detect stains
run("Duplicate...", " ");run("Rename...", "title=stains");
run("Gaussian Blur...", "sigma=4.5");
run("Subtract Background...", "rolling=50 light");
setThreshold(0.0000, 220.0000);setOption("BlackBackground", true);run("Convert to Mask");
// filter image (salt and pepper)
selectWindow("data");
run("Median...", "radius=3");
// remove low spatial frequencies
run("Duplicate...", " ");run("Rename...", "title=fond");
run("Gaussian Blur...", "sigma=8");
```

```
imageCalculator("Subtract create 32-bit", "fond", "data");run("Rename...", "title=res");  
// threshold  
setThreshold(11.0000, 255.0000);setOption("BlackBackground", true);run("Convert to Mask");  
// remove stains  
imageCalculator("Subtract", "res", "stains")  
selectWindow("stains");close();  
// filter again  
selectWindow("res");  
run("Median...", "radius=2");  
// count proportion of white pixels and insert file name  
run("Measure");setResult("Image", nResults-1, name);  
selectWindow("data");close();  
selectWindow("fond");close();
```

Supplemental material S2. Automated method for varicosities extraction in ImageJ software

```
// save file name for results  
name=getTitle();run("Rename...", "title=full");  
run("Set Measurements...", "area mean redirect=None decimal=3");  
// extract blue component in ROI  
run("Split Channels");  
selectWindow("full (green)");close();  
selectWindow("full (red)");close();  
// select ROI 300x300µm  
makeRectangle(790, 144, 1320, 1320);  
run("Duplicate...", " ");run("Rename...", "title=data");  
selectWindow("full (blue)");close();  
// compute difference of Gaussian  
run("Duplicate...", " ");run("Rename...", "title=sharp");  
run("Duplicate...", " ");run("Rename...", "title=smooth");  
run("Gaussian Blur...", "sigma=5");
```

```
selectWindow("sharp");  
run("Gaussian Blur...", "sigma=2.5");  
imageCalculator("Subtract create", "smooth","sharp");run("Rename...", "title=res");  
selectWindow("smooth");close();  
selectWindow("sharp");close();  
selectWindow("data");close();  
  
// Threshold  
setThreshold(18.0000, 255.0000);setOption("BlackBackground", false);run("Convert to Mask");  
  
// count proportion of white pixels and insert file name  
run("Measure");setResult("Image", nResults-1, name);
```

2) Conclusion

Cette étude anatomique nous a permis de révéler le pattern d'organisation rostro-caudale de l'innervation de régions de l'OFC et du mPFC. Nos résultats montrent une relative homogénéité de l'innervation préfrontale le long de l'axe antéro-postérieur. Néanmoins, deux exceptions ont été observées, l'une au sein du VO et l'autre au sein de A25 (cortex infralimbique). L'innervation de ces deux régions est organisée selon un gradient rostro-caudal. Ces données appuient l'analyse faite par Morrison et ses collaborateurs concernant les trajectoires intra-corticales des afférences coeruleo-corticales (Morrison et al 1979a, Morrison et al 1981). Au-delà de l'hétérogénéité anatomique, des hétérogénéités fonctionnelles selon l'axe antéro-postérieur ont également été récemment observées au sein du PFC (Bradfield et al 2018, Naneix et al 2009, Panayi & Killcross 2018).

CHAPITRE 2

Contrôle noradrénergique de l'action dirigée vers un but

-Article 2: Noradrenergic control of action-outcome identity reversal in the orbitofrontal cortex

Chapitre 2:

Contrôle noradrénergique de l'action dirigée vers un but

Les données récentes montrent que l'OFC est impliqué dans l'action dirigée vers un but de manière subtile. En effet, il ne permet pas directement l'apprentissage d'associations instrumentales ou l'adaptation de la réponse à un changement de valeur de sa conséquence. En revanche, lorsque les associations sont modifiées, la perturbation de l'activité de l'OFC altère la capacité de l'animal à intégrer ces nouvelles informations pour adapter son comportement. Le mécanisme par lequel l'OFC réalise cette opération n'est pas connu. Néanmoins, le rôle généralement assigné à la NA dans la flexibilité comportementale en fait un candidat idéal.

Dans cette étude, nous avons utilisé le protocole d'inversion présenté précédemment (Parkes et al 2018). Par une approche de déplétion nous avons cherché à déterminer si les afférences noradrénergiques au sein de l'OFC ventral et latéral sont importantes lors de la phase d'inversion. Nos résultats indiquent que les afférences noradrénergiques jouent bien un rôle lors de cette phase. Bien que la déplétion ne soit pas restreinte au vlOFC, plusieurs éléments suggèrent que le rôle de la NA dans cette tâche est bien spécifique au vlOFC. De plus, une déplétion des fibres dopaminergiques au sein du vlOFC n'a, elle, aucun effet, indiquant une spécificité neurochimique de la NA.

Noradrenergic control of action-outcome identity reversal in the orbitofrontal cortex

Juan-Carlos Cerpa^{1,2}, Shauna L. Parkes^{1,2}, Margot Dehove^{1,2}, Angélique Faugère^{1,2}, Mathieu Wolff^{1,2},
Alain R. Marchand^{1,2}, Etienne Coutureau^{1,2}

¹CNRS, Institut de Neurosciences Cognitives et Intégratives d'Aquitaine, UMR 5287, 33076 Bordeaux, France;

²Université de Bordeaux, 33076 Bordeaux, France.

Address for correspondance: Etienne Coutureau

Institut de Neurosciences Cognitives et Intégratives d'Aquitaine (INICIA)

UMR 5287 CNRS/Université de Bordeaux

Université de Bordeaux-Site Carreire,

146 rue Léo Saignat, BP 31

33076 Bordeaux cedex

France

Phone: +33 (0)5 57 57 15 48

Fax: +33 (0)5 56 90 02 78

E-mail: etienne.coutureau@cnrs.fr

Running title: NA in OFC and action-outcome identity reversal

ABSTRACT

In a constantly changing world, an organism must be able to track and adapt to changes in the outcomes of its actions. Such adaptive behaviour rely on circuits involving cortical and subcortical structures. Notably, current research suggest a functional heterogeneity within cortical regions implicating the dorsomedial prefrontal cortex (PL/A32), the gustatory insular cortex and the orbitofrontal cortex (OFC). The role of the latter has been debated, however our recent data indicate that the ventral and lateral parts of the OFC are necessary to integrate changes in the relationships between actions and their specific outcomes. Neuromodulatory agents are crucial components of prefrontal functions. Among those, it has been proposed that noradrenaline supports behavioural flexibility *via* its interactions with prefrontal areas, including the OFC. Therefore, we assessed the possibility that noradrenergic innervation in the ventral and lateral OFC plays a role in updating actions-outcomes relationship. We used an identity-based reversal task and found that noradrenergic inputs depletion into the vOFC impaired behavioural flexibility. Depletion of noradrenergic inputs into the medial prefrontal cortex or dopaminergic inputs into the vOFC does not replicate this deficit. Altogether these results indicate a specific role for NA in vOFC for flexibility of action-guided behaviour.

Keywords: Neuromodulation, Prefrontal cortex, Reversal, Locus Coeruleus, Rat, Noradrenaline

INTRODUCTION

Organisms use their knowledge of an environment to engage in behaviors that meet their basic needs or desires. In a dynamic environment, an organism must also be able to update its understanding of the world, particularly when the outcomes or consequences of the selected behavior are changing. A large literature has documented that such goal-directed behaviors are supported by prefrontal cortical areas (O'Doherty et al 2017).

Current research suggests a parcellation of functions within the prefrontal regions in rodents (Coutureau & Parkes 2018). Notably, the prelimbic region (PL) of the medial prefrontal cortex is necessary to learn the relationship between actions and their outcomes (Corbit & Balleine 2003, Killcross & Coutureau 2003, Tran-Tu-Yen et al 2009) and the gustatory region of the insular cortex (IC) is required to recall the current value of outcomes to guide choice between competing actions (Balleine & Dickinson 2000, Parkes & Balleine 2013, Parkes et al 2015). In addition, we recently demonstrated that VO and LO subregions of the orbitofrontal cortex are necessary when rats are required to update previously established instrumental associations (Parkes et al 2018), therefore suggesting that VO and LO play a critical role in the online tracking of the current relationships between actions and their specific consequences.

Current models suggest that behavioral flexibility also requires activity in noradrenergic neurons of the locus coeruleus (LC), which are thought to track an animal's uncertainty about the current situation (Bouret & Sara 2004, Cope et al 2019, Jahn et al 2018, McGaughy et al 2008, Tait et al 2007, Tervo et al 2014, Uematsu et al 2017). Most notably, recent theoretical models hypothesize that NA-mediated behavioral flexibility depends on interactions with prefrontal areas (Sara & Bouret 2012).

Taken together, these data raise the intriguing possibility (Sadacca et al 2016) that the LC system innervating the OFC (Agster et al 2013, Cerpa et al 2019, Chandler et al 2013) might be integral to the updating of previously established instrumental associations following environmental change. To investigate this possibility, we assessed the contribution of noradrenaline inputs to the vOFC on reversal of goal-directed actions. Specifically, after learning initial action-outcome (A-O) associations the rat is required to flexibly encode and use new associations during a reversal task (Parkes et al 2018). In Experiment 1, we found that saporin depletion of noradrenergic fibers in the vOFC produced a deficit in reversal. The same manipulation in the mPFC did not impact behavior (Experiment 2), demonstrating an anatomical selectivity of NA inputs. Dopamine deletion in the OFC also spared performance on reversal learning (Experiment 3). Collectively, these data point to a specific role for vOFC NA in behavioral flexibility.

MATERIAL & METHODS

Experiment 1: Noradrenergic depletion in OFC using anti-DBH saporin

Animals and housing conditions

A total of 55 male Long-Evans rats, aged 2-3 months, were obtained from Centre d'Élevage Janvier (France). Rats were housed in pairs with *ad libitum* access to water and food prior to the behavioral experiments. The facility was maintained at 21 ± 1 °C with lights on from 08:00 to 20:00. Environmental enrichment was provided by tinted polycarbonate tubing elements, in accordance with current French (Council directive 2013-118, February 1, 2013) and European (directive 2010-63, September 22, 2010, European Community) laws and policies regarding animal experiments. The experiments received approval # 5012053-A from the local Ethics Committee. The animals were divided into 2 groups before being injected with a toxin targeting noradrenergic projections: group SAP (n=30) and control group CTRL (n=25). For half of the rats in each group (Pre groups), surgery was performed before the initial action-outcome instrumental training phase (Figure 2A). For the other half, surgery was performed after the initial phase (Post groups).

Surgical procedures

Rats were anesthetized with 5% isoflurane and placed in a stereotaxic frame with atraumatic ear bars (Kopf Instruments) in a flat skull position. Anaesthesia was maintained with 1.5% isoflurane and complemented with a subcutaneous injection of analgesic ropivacaine (a bolus of 0.1mL at 2mg/mL) at the incision site. Intracerebral injections were made using repeated pressure pulses delivered *via* a glass micropipette connected to a pressure injector (Picospritzer III, Parker). In SAP groups, 0.1 µl of anti-DBH saporin (0.1 µg/µl) was bilaterally injected at one site targeting the vOFC. Rats in CTRL groups received the same surgical procedure with injections of 0.1 µl of inactive anti-IgG saporin (0.1 µg/µl, unable to penetrate cells) in the vOFC. Injection coordinates (in millimeters from Bregma) were determined from the atlas of Paxinos and Watson (2014): +3.5 antero-posterior (AP); ± 2.2 medio-lateral (ML); -5.4 dorso-ventral (DV). After each microinjection, the glass pipette was left in place for an additional 5 min to allow proper diffusion. All operated rats were allowed 2 weeks to recover. During recovery, rats were monitored and weighed daily.

Behavioral apparatus

Instrumental training and testing procedures took place in 8 identical operant chambers (40 cm width x 30 cm depth x 35 cm height, Imetronic, Pessac, France) individually enclosed in sound and light resistant wooden chambers (74 x 46 x 50 cm). Each chamber was equipped with 2 pellet dispensers that delivered grain (Rodent Grain-Based Diet, 45mg, Bio-Serv) or sugar (LabTab Sucrose Tablet, 45 mg,

TestDiet) pellets into a food port when activated. Two retractable levers were located on each side of the food port. Each chamber had a ventilation fan producing a background noise of 55 dB. During the session, the chamber was illuminated by four LEDs in the ceiling. Experimental events were controlled and recorded by a computer located in the room and equipped with POLY software (Imetronic). Devaluation and consumption tests occurred in individual polycarbonate feeding cages (Perspex cages, 42 x 28 x 20 cm) located in a different room. Glass dishes (7.5 cm in diameter) containing food pellets were fixed to the floor of each cage.

Behavioral procedures

In all experiments, rats were first habituated to the food port through two daily sessions of training. During these sessions, rats received 40 sugar and 40 grain pellets in the food port, pseudo-randomly interspersed, on average every 60 s.

Initial phase and devaluation test

The training procedure was adapted from Parkes et al (2018). Following food port training, rats received 12 daily sessions of instrumental training during which they were required to learn initial action-outcome associations. During each session, each lever, in alternation, was presented twice for a maximum of 10 min or until 20 outcomes were earned. The intertrial interval between lever presentations was 2.5 min. Thus, the session could last up to 50 min and the rats could obtain a maximum of 80 food pellets. The action-outcome associations (e.g., left lever-grain pellet and right lever-sugar pellet) and the order of lever presentations were counterbalanced between rats and days. During the first three sessions, lever pressing was continuously reinforced (FR1). Then, the probability of receiving an outcome after lever pressing was reduced. During days 4-6, a random ratio (RR) 5 schedule was introduced (an outcome was delivered after, on average, 5 presses). During days 7-9, an RR10 schedule was used (an outcome was delivered after, on average, 10 presses). Finally, an RR20 schedule was used on days 10-12 (an outcome was delivered after, on average, 20 presses). During day 12, rats were additionally habituated to the plastic feeding cages for 30 min.

The instrumental devaluation test was performed one day after the last training session. Rats received *ad libitum* access to one of the two outcomes (20 g) for one hour in the feeding cages to induce sensory-specific satiety (Rolls 1986). The devalued (sated) food was counterbalanced between rats in each action-outcome assignment. Immediately after the satiety procedure, a 10 min instrumental test was performed under unrewarded conditions. Rats were placed in the operant chambers with both levers available but inactive. Responses on each lever were recorded.

Immediately after the devaluation test, rats were returned to the feeding cages and given a consumption test of satiety-induced devaluation. Rats received 10 min concurrent access to both types of food pellets (10 g of each). The consumption of each pellet type was measured to confirm that the satiety-induced devaluation was effective and that the rats were able to distinguish between the sensory features of the different food pellets.

Reversal of the instrumental contingencies

Rats in the post groups received surgery following the initial phase and devaluation. After the two week recovery period, all rats (pre and post groups) were retrained on a RR20 schedule to ensure a good level of performance on the initial action-outcome associations. They were then trained on reversed action-outcome associations with a procedure adapted from previous studies in our laboratory (Fresno et al 2019, Parkes et al 2018). The identity of outcomes was switched so that rats had to update previous associations (e.g., the left lever now earned sugar pellets instead of grain and the right lever now earned grain pellets instead of sugar). Reversal training sessions were otherwise identical to initial training sessions. Rats received five reversal sessions with an RR20 schedule. Following reversal training, devaluation and consumption tests were conducted in the same manner as previously described.

Immunohistochemistry

At the end of behavioral experiments, rats were killed with an overdose of sodium pentobarbital (Exagon® Euthasol) and perfused transcardially with 60 ml of saline followed by 260 ml of 4% paraformaldehyde (PFA) in 0.1 M phosphate buffer (PB). Brains were removed and postfixed in the same PFA 4% solution overnight and then transferred to a 0.1 M PB solution. Subsequently, 40 μ m coronal sections were cut using a VT1200S Vibratome (Leica Microsystems). Every fourth section was collected to form a series. Immunoreactivity was then performed for Dopamine- β -Hydroxylase (D β H). Free-floating sections were first rinsed in phosphate buffer saline (PBS) containing 0.3% Triton X-100 (PBST; 4x5 min) and then incubated in PBST containing 1% hydrogen peroxide solution (H₂O₂) for 30 min. Further rinses were performed using PBST (4x5 min) before incubation in a blocking solution (PBST containing 3% goat serum) for 1 h. Sections were then incubated with mouse monoclonal anti-DBH antibody (1/10000 in blocking solution, MAB308 Merck Millipore Bioscience Research Reagents) for 48 h at 4 °C on a shaker. After rinses in 0.1 M PBS (4x5 min), sections were placed for 2 h in a bath containing biotinylated goat anti-mouse secondary antibody (1/1000 in PBS 0.1 M, 115-065-062 Jackson ImmunoResearch) for 90 min at room temperature. Following rinses in PBS 0.1 M (4x5 min), they were then incubated with avidin-biotin-peroxydase complex (1/200 in PBS 0.1 M, 32020 ThermoFisher Scientific) for 90 min at room temperature. H₂O₂ was added to the solution before the final staining made with diaminobenzidine (DAB, 10mg tablet, D5905 Sigma-Aldrich) dissolved in 50mL 0.05 M Tris

buffer (TB). Sections were then rinsed with 0.05 M TB and then 0.05 M PB. They were collected on gelatin-coated slides, dehydrated with xylene, mounted and coverslipped using Eukitt mounting medium.

Measure of fiber loss

We used the protocol described in Cerpa et al (2019) to measure fiber density. Sections were scanned using a Nanozoomer slide scanner (Hamamatsu Photonics) with 20x lens and analyzed with the NDP.view 2 freeware (Hamamatsu Photonics). Digital microphotographs of regions of interest (ROI) in each hemisphere were examined under a 20x virtual lens. Each ROI was outlined according to Paxinos and Watson (2014). We examined sections at +4.4, +3.7 and +3.0 (from Bregma) for ventral orbitofrontal cortex (VO), lateral orbitofrontal cortex (LO), dorsal (A32d) and ventral (A32v) area 32 and at +5.6, +5.1 and +4.4 for medial orbitofrontal cortex (MO). For each section, we analyzed square windows (300 x 300 μm , 1320 x 1320 pixels) corresponding to the different structures (Figures 1, 3, 5).

Quantification of DBH-positive fibers was performed using an automated method developed in the laboratory using ImageJ software (Cerpa et al 2019). To estimate the density of fibers in an area of interest, a digitized version of the microphotograph was converted to black and white by combining blue, red and green channels with weights 1, -0.25 and -0.25, then subjected to a median filter (radius 3 pixels) in order to improve the signal-to-noise ratio. It was then smoothed with a Gaussian filter (radius 8) and subtracted from the previous picture to isolate high spatial frequencies. Large stains were further eliminated by detecting them in a copy of the image. The picture was then subjected to a fixed threshold (grey level 11) to extract stained elements, and the relative volume occupied by fibers was estimated by the proportion of detected pixels in the ROI. As a control for poor focus, the same images were analyzed again while allowing lower spatial frequencies (Gaussian filter radius 20). The ratio between the proportions of pixels detected by the two methods was used as a criterion to eliminate blurry images.

Data analyses

Analyses were performed using Statview software (SAS institute). To quantify fiber loss, measurements from both hemispheres of the same animal were averaged at each anatomical level. Fiber loss was analyzed *via* unpaired t-tests. Data are presented as mean \pm SEM of volume fraction corresponding to pixelated fibers.

Behavioral results were analyzed using mixed-model ANOVAs, with groups (between-subjects), phase of surgery (pre or post; between-subjects) and condition (devalued or non-devalued; within-subjects) as factors, followed by simple-effect analyses when required. For training, data are presented as mean \pm SEM of averaged presses per min on both levers. For the instrumental devaluation tests, data are

presented as mean \pm SEM of presses per min on each lever. For all statistical analyses, the α value for rejection of the null hypothesis was fixed at 0.05.

Experiment 2: Noradrenergic depletion in mPFC using anti-D β H saporin

The methods of Experiment 2 are similar to those of Experiment 1, except for the targeted brain region. A total of 27 male Long-Evans rats, aged 2-3 months, obtained from Centre d'Élevage Janvier (France) were divided into 2 groups before being injected with a toxin targeting noradrenergic projections to mPFC: group SAP (n=15) and CTRL (n=12). Half of the rats in each group (Pre groups), underwent surgery before the initial A-O training phase, and the other half (Post groups) received surgery after the initial phase (Figure 4A).

In SAP groups, 0.1 μ l of anti-DBH saporin (0.1 μ g/ μ l) was bilaterally injected at one site in the mPFC. Rats in CTRL groups received the same surgical procedure with injections of 0.1 μ l of inactive anti-IgG saporin. Injection coordinates were (in millimeters from Bregma): +3.2 AP; \pm 0.6 ML; -3.6 DV. All operated rats were allowed 2 weeks to recover.

Experiment 3: Catecholaminergic depletion in OFC using 6OHDA

The aim of Experiment 3 was to remove dopaminergic (DA) and noradrenergic (NA) projections to the OFC (Figure 6A). A total of 38 male Long-Evans rats, aged 2-3 months, were obtained from Centre d'Élevage Janvier. All rats underwent surgery after the initial A-O training phase. Animals were divided into 3 groups: CTRL (n=16), 6-OHDA (n=12) to target both NA and DA neurons, and 6-OHDA+Desipramine (n=9) to specifically target DA neurons. 6-OHDA hydrochloride (4 μ g/ μ l, H4381 Sigma Aldrich) was dissolved in vehicle solution containing 0.9% NaCl and 0.1% ascorbic acid. A volume of 0.2 μ l 6-OHDA was bilaterally injected in the OFC at the same coordinates as in Experiment 1. Animals in CTRL group received two injections of 0.2 μ l of vehicle solution. Thirty minutes before the surgical procedure, animals in 6-OHDA+Desipramine group received an intraperitoneal injection of the noradrenaline uptake-blocker desipramine (25 mg/ml, 1 ml/kg)(Naneix et al 2009).

After perfusion, brains were removed and postfixed in PFA 4% overnight and then transferred to 0.1 M PB with 30% saccharose solution. Thereafter, 40 μ m coronal sections were cut using a microtome (Leica Microsystems).

Immunohistochemistry was performed for Dopamine- β -Hydroxylase (D β H) as in Experiments 1 and 2, and additionally for Tyrosine Hydroxylase (TH). Brain sections were incubated with mouse monoclonal

anti-DBH antibody (1/10000 in blocking solution, MAB308 Merck Millipore Bioscience Research Reagents) or mouse monoclonal anti-TH antibody (1/2000 in blocking solution, MAB318 Merck Millipore Bioscience Research Reagents) for 48 h at 4 °C on a shaker. Following procedures were otherwise identical to those in Experiment 1 & 2.

Fiber loss was analyzed *via* ANOVAs, and Bonferroni/Dunn *post-hoc* tests were performed to establish the source of any interactions. Data are presented as mean \pm SEM of volume fraction corresponding to pixelated fibers. Behavioral results were analyzed by separate ANOVAs run on each group with condition (devalued or non-devalued) as within-subject factor. Data are presented as mean \pm SEM of presses per min on each lever.

RESULTS

Experiment 1: Noradrenergic depletion in OFC using anti-D β H saporin

This experiment evaluated the impact of the loss of noradrenergic fibers in the OFC on the ability of rats to learn initial and reversed action-outcome contingencies.

Regional NA fiber loss

Figure 1A shows the mean density of D β H-immunoreactive fibers in VO and LO of Control groups and Saporin groups. These groups received an OFC injection of inactive anti-IgG saporin and anti-D β H saporin, respectively. Representative images are shown in the bottom panel. In Saporin groups, a loss of fibers occurred in both VO (unpaired t-test $t_{(50)} = 20.1$, $p < 0.0001$) and LO ($t_{(51)} = 16.6$, $p < 0.0001$), reaching approximately 95% depletion in these two regions. The whole anteroposterior extent of these regions was affected (Supplementary Figure 1).

Figure 1B shows the density of D β H-immunoreactive fibers in non-targeted regions, specifically the medial portion of OFC (MO) as well as dorsal and ventral area 32 (Paxinos & Watson 2014) corresponding to the most anterior parts of the medial prefrontal cortex (mPFC). Representative images are shown in the bottom panel. Noradrenergic fiber loss also occurred in these prefrontal regions (about 80% depletion). Unpaired t-tests confirmed a significant difference between groups in MO ($t_{(46)} = 17.6$, $p < 0.0001$), A32d ($t_{(49)} = 14.7$, $p < 0.0001$) and A32v ($t_{(50)} = 15.1$, $p < 0.0001$).

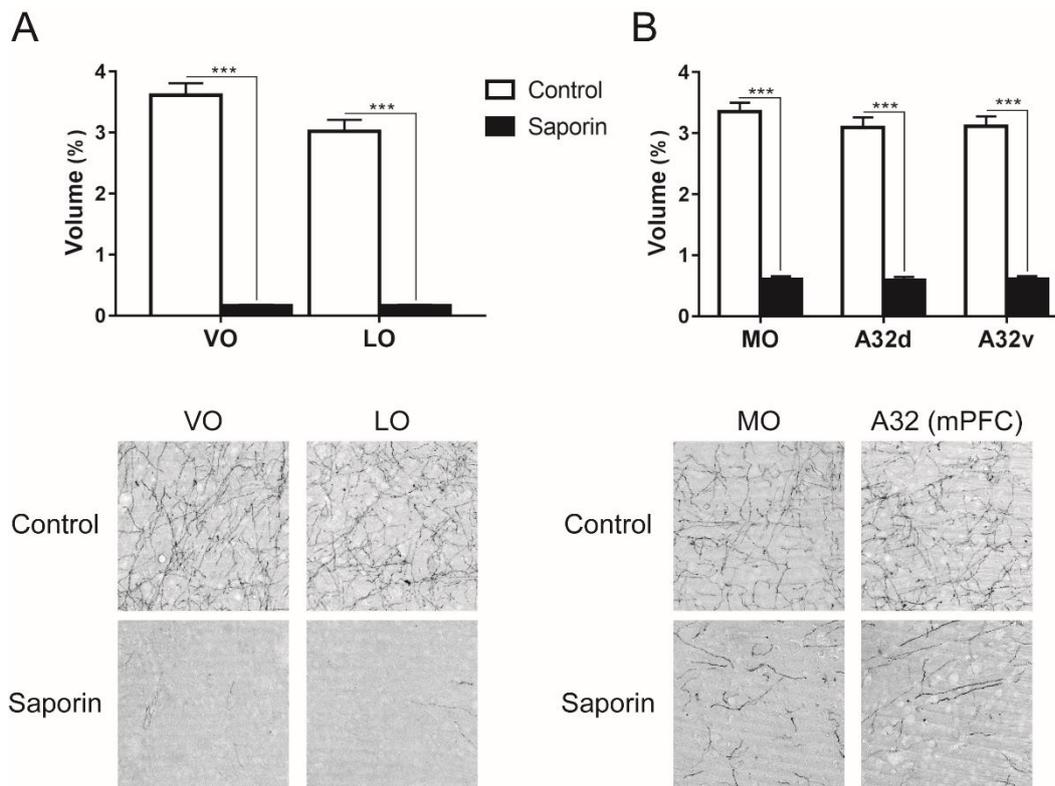


Figure 1. Effects of anti-DβH saporin in the OFC. A. Noradrenergic fiber loss in orbitofrontal cortex. Volume fraction occupied by detected DβH immunostained fibers (see Methods) in Ventral orbital (VO) and Lateral orbital (LO) regions of rats injected in the OFC with inactive anti-IgG(Control) or active anti-DβH saporin (Saporin). Saporin induced a massive loss (95%) of fibers in both regions. **B.** Fiber loss in non-targeted regions MO and mPFC (A32d, A32v). The same injection of anti-DβH saporin in the OFC induced loss of 80% of fibers in MO and mPFC, presumably because of branching projections to both OFC and mPFC. Bottom panels: representative microphotographs of DβH immunostained slices (square size: 300 x 300 μm).

Behavioral results

Figure 2A illustrates the experimental scheme used in this study. Initial training is followed by devaluation and test. During the reversal phase, action-outcome associations are switched, again followed by devaluation and test. Pre groups underwent surgery before the start of the experiment. Post groups underwent surgery only after completion of the initial phase and immediately before reversal.

Initial instrumental training

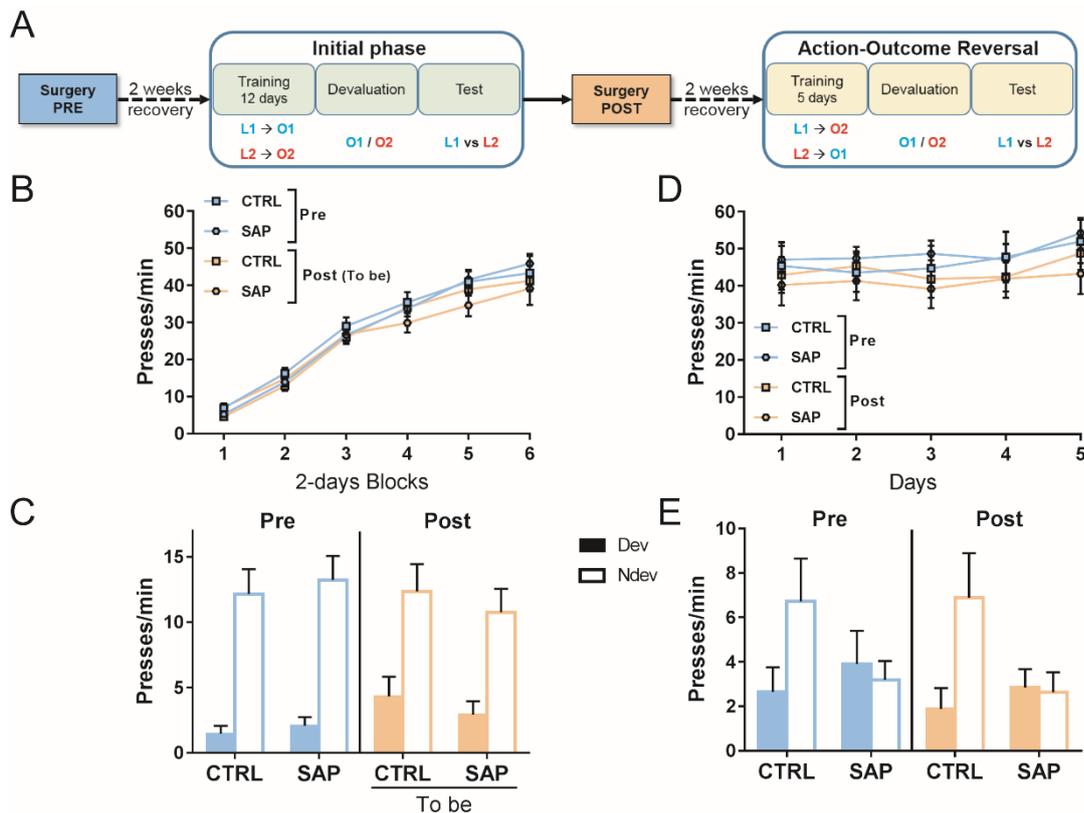
Figure 2B shows instrumental performance during initial training. Performance increased across blocks ($F_{(1,51)} = 353.8$; $p < 0.0001$) with no significant group differences ($F_{(1,51)} = 0.20$; ns). There was no interaction between blocks and group ($F_{(1,51)} = 0.75$; ns), nor between blocks and pre or post-surgery phase ($F_{(1,51)} = 1.34$; ns), and there was no three-way interaction ($F_{(1,51)} = 2.09$; ns). Compared to Post groups, which were intact at this stage, Pre groups with noradrenergic depletion were therefore not affected in their ability to acquire and perform instrumental responses.

Outcome devaluation test

Figure 2C shows instrumental performances of Pre and Post-groups during the outcome devaluation test conducted under extinction conditions. All groups strongly biased their responses towards the lever associated with the non-devalued outcome, indicating that they had correctly encoded the action-outcome associations. The ANOVA confirmed the effect of devaluation ($F_{(1,51)} = 73.5$; $p < 0.0001$), with no interaction with group ($F_{(1,51)} = 0.004$; ns) or surgery phase ($F_{(1,51)} = 0.18$; ns). In addition, no interaction between these three factors was found ($F_{(1,51)} = 0.88$; ns). In the choice test after the instrumental test, rats also preferentially consumed the non-devalued outcome (Supplementary Table 1). Indeed, statistical analyses indicated an effect of devaluation ($F_{(1,51)} = 159.9$; $p < 0.0001$) on consumption. This factor did not interact with group ($F_{(1,51)} = 0.6$; ns) or with surgery phase ($F_{(1,51)} = 0.2$; ns). In addition, there was no three-way interaction ($F_{(1,51)} = 0.9$; ns). These data show that NA depletion did not affect the learning or performance of goal-directed responses in the initial phase.

Reversal training

The results of reversal training are presented in Figure 2D. Lever pressing continued to increase across days ($F_{(1,51)} = 12.8$; $p < 0.0001$), but with no significant differences between groups ($F_{(1,51)} = 0.008$; ns). There was no training day x group interaction ($F_{(1,51)} = 0.37$; ns) nor training day x surgery phase interaction ($F_{(1,51)} = 1.84$; ns), and there was no three-way interaction ($F_{(1,51)} = 1.51$; ns). Thus, instrumental performance during outcome identity reversal was not affected by pre- or post-training depletion of NA.



Outcome devaluation test following reversal

The results of the test following reversal training are shown in Figure 2E. Both control groups appeared to bias their responses towards the lever recently associated with the non-devalued outcome, whereas no such bias occurred in Pre or Post SAP groups, suggesting that they had not updated the A-O associations. The ANOVA showed a devaluation effect ($F_{(1,51)} = 6.62$; $p = 0.013$) that interacted with group ($F_{(1,51)} = 10.0$; $p = 0.0026$), but not with surgery phase ($F_{(1,51)} = 0.21$; ns). No triple interaction between these factors was found ($F_{(1,51)} = 0.018$; ns). Post hoc tests revealed that both pre ($F_{(1,12)} = 7.75$; $p = 0.017$) and post ($F_{(1,11)} = 9.83$; $p = 0.009$) control groups pressed significantly more on the lever associated with the non-devalued lever. By contrast, neither pre ($F_{(1,14)} = 0.16$; ns) nor post ($F_{(1,14)} = 0.026$; ns) saporin groups exhibited this preference. This effect cannot be due to a difference in satiety since all animals consumed more non-devalued than devalued outcomes in the choice test (Supplementary Table 1). Indeed, the ANOVA showed an effect of devaluation ($F_{(1,51)} = 95.4$; $p < 0.0001$) on consumption but not interaction with group ($F_{(1,51)} = 0.2$; ns) nor with surgery phase ($F_{(1,51)} = 0.1$; ns). In addition, there was no

three-way interaction ($F_{(1,51)} = 0.2$; ns). Taken together these results indicate that noradrenergic depletion in the OFC (and also mPFC) did not impede instrumental performance per se but impacted the learning of reversed A-O contingencies or the expression of this learning.

Experiment 2: Noradrenergic depletion in mPFC using anti-D β H saporin

Experiment 1 clearly showed that noradrenergic depletion impaired updating of outcome identity during instrumental reversal. Although the most severe NA depletion occurred in the targeted OFC, other prefrontal regions, in particular the mPFC, were also affected in this experiment. In order to confirm that the previous behavioral effect was due to noradrenergic depletion in the OFC rather than in the mPFC, we performed the same NA depletion experiment, but targeted the mPFC instead of the OFC. As shown in Figure 4A, the experimental design of Experiment 2 was identical to that of Experiment 1.

Regional NA fiber loss

As shown in Figure 3A, injection of anti-D β H saporin in the mPFC impacted fiber density in this region. Illustrative microphotographs are shown in bottom panels. A significant loss of D β H fibers was found in both A32d ($t_{(20)} = 5.26$, $p < 0.0001$) and A32v ($t_{(19)} = 4.40$, $p = 0.0003$), however the magnitude of this loss (50% depletion) was less than in Experiment 1. The detailed anteroposterior extent of the depletion is shown in Supplementary Figure 2.

Figure 3B shows that anti-D β H saporin injection in the mPFC did not impact the density of noradrenergic fibers in the medial ($t_{(24)} = 0.074$, ns) or lateral part ($t_{(22)} = 1.67$, ns) of the OFC. A small (14%) but significant loss of fiber was found only in VO ($t_{(22)} = 2.38$, $p = 0.026$).

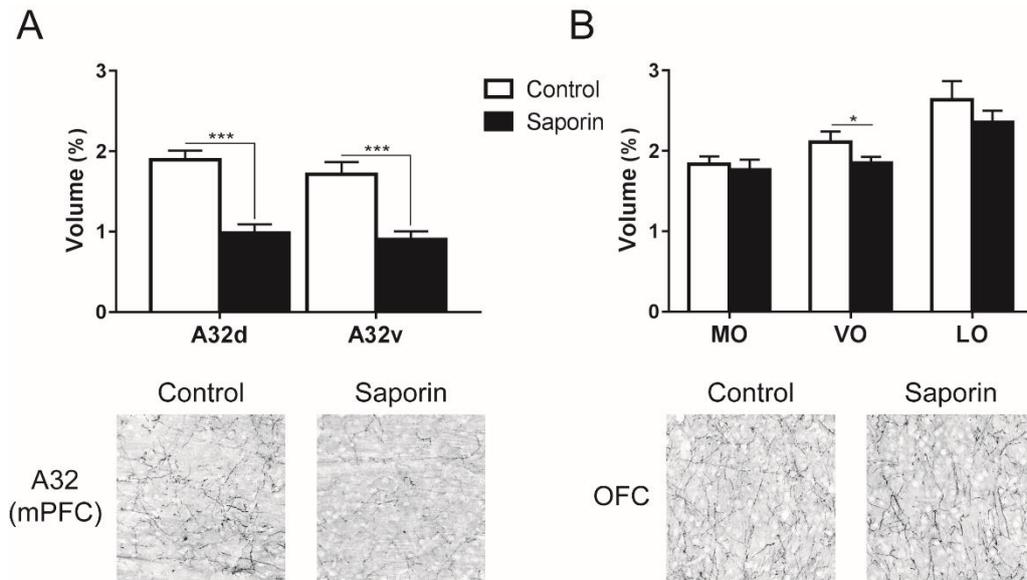


Figure 3. Effects of anti-D β H saporin in the mPFC. **A.** Noradrenergic fiber loss in mPFC of rats injected in the mPFC with inactive anti-IgG (Control) or active anti-D β H saporin (Saporin). The injection of anti-D β H saporin induced loss of 50% of fibers in A32d and A32v. **B.** Noradrenergic fiber measurement in non-targeted MO, VO and LO regions. Saporin only induced a slight but statistically significant loss (14%) of fibers in VO. Bottom panels: representative microphotographs of D β H immunostained slices (square size: 300 x 300 μ m).

Behavioral results

During instrumental training, no differences between groups were found (data not shown). Performance increased across blocks ($F_{(1,23)} = 227.7$; $p < 0.0001$) with no significant group differences ($F_{(1,23)} = 2.2$; ns). There was no interaction between blocks and group ($F_{(1,23)} = 2.1$; ns), nor between blocks and pre or post-surgery phase ($F_{(1,23)} = 0.629$; ns), and there was no three-way interaction ($F_{(1,23)} = 0.4$; ns). Pre groups with noradrenergic depletion were therefore not affected in their ability to acquire and perform instrumental responses.

Outcome devaluation test

The results of the devaluation test after initial training are shown in Figure 4B. All groups displayed a bias toward the lever previously associated with the non-devalued outcome, indicating that they had correctly encoded the action-outcome associations. The ANOVA confirmed the main effect of devaluation ($F_{(1,23)} = 56.1$; $p < 0.0001$), without any interaction with other factors (max $F_{(1,23)} = 2.42$; ns). Furthermore, rats also consumed more non-devalued outcome than devalued outcome during the consumption test (Supplementary Table 1). ANOVA analyses indicated an effect of devaluation ($F_{(1,23)} = 77.6$; $p < 0.0001$) on consumption. This factor did not interact with group ($F_{(1,23)} = 0.5$; ns) or with surgery phase ($F_{(1,23)} = 1.9$; ns). In addition, there was no three-way interaction ($F_{(1,23)} = 2.7$; ns). Taken together,

these data show that NA depletion in the mPFC did not affect the acquisition or expression of goal-directed responses in the initial phase.

Outcome devaluation test following reversal training

During training on reversed instrumental associations, saporin and control groups performed similarly (data not shown). Lever pressing was variable across days ($F_{(1,23)} = 15.5$; $p < 0.0001$), but with no significant differences between groups ($F_{(1,23)} = 1.03$; ns). There was no training day x group interaction ($F_{(1,23)} = 1.3$; ns). Although a training day x surgery phase interaction was found ($F_{(1,23)} = 5.8$; $p = 0.0003$), there was no three-way interaction ($F_{(1,23)} = 0.8$; ns). Figure 4C shows the results of the subsequent outcome devaluation test. As in the initial phase, rats displayed a significant preference for the lever now associated to the non-devalued outcome ($F_{(1,23)} = 5.78$; $p = 0.025$). Again, this devaluation effect did not interact with any other factors (max $F_{(1,23)} = 0.41$; ns). During the consumption test, all rats ate preferentially the non-devalued outcome (Supplementary Table 1). We found a significant effect of devaluation ($F_{(1,23)} = 59.2$; $p < 0.0001$) on consumption. This factor did not interact with group ($F_{(1,23)} = 1.4$; ns) or with surgery phase ($F_{(1,23)} = 1.5$; ns). In addition, there was no three-way interaction ($F_{(1,23)} = 0.3$; ns).

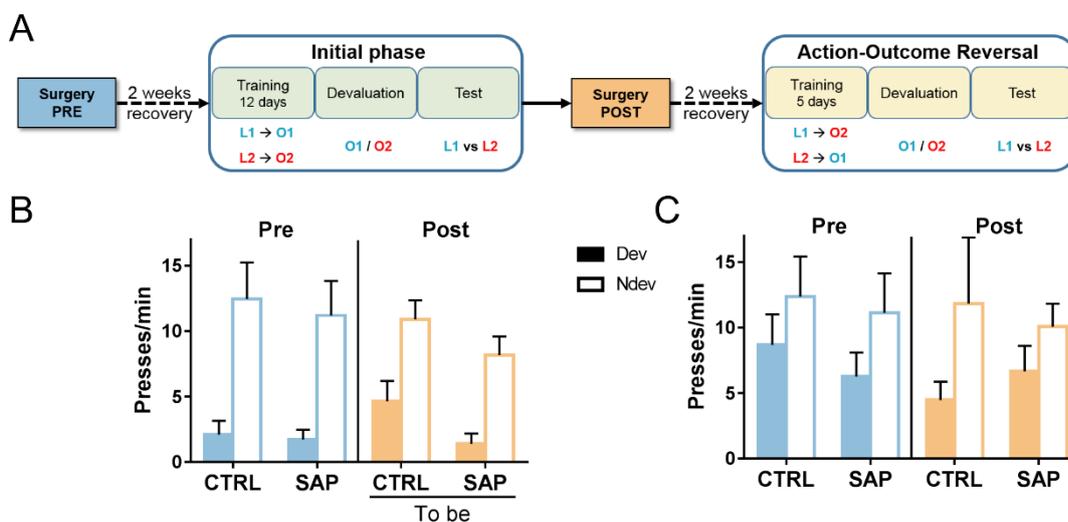


Figure 4. Behavioral effects of NA depletion in the mPFC. **A.** Schematic representation of the training and testing phases (identical to those in Experiment 1). **B.** Initial devaluation test. In all groups, pressing on the devalued lever (Dev) decreases after sensory-specific satiety as compared to the non-devalued lever (Ndev). **C.** Devaluation test after reversal. NA depletion in mPFC using anti-DβH saporin (SAP) spares the sensitivity to devaluation of the instrumental response after reversal. 10 minutes main data.

Altogether, these results indicate that NA depletion in the mPFC does not prevent adaptation to outcome reversal. However, the smaller effect of saporin in this experiment requires to be cautious on this conclusion. Therefore, the impairment observed after reversal learning in Experiment 1 can be attributed to noradrenergic depletion of the OFC.

Experiment 3: Catecholaminergic depletion in OFC using 6OHDA

Experiments 1 and 2 suggest a regionally selective effect of noradrenergic depletion in the OFC on the adaptation to outcome identity reversal. We then sought to determine whether this effect was specific to noradrenaline, or whether another neuromodulator, dopamine, in the OFC could be involved in this function. To this end, we compared the effect of selective dopaminergic depletions with the effect of broader catecholaminergic (noradrenergic and dopaminergic) depletions.

Regional fiber loss

As in previous experiments, we performed D β H immunostaining to evaluate noradrenergic depletion. The results are shown in Figure 5A, B with illustrative microphotographs in the bottom panel. One rat from 6OHDA+Desipramine group had to be excluded because of large depletion of noradrenergic fibers (>35%). The group treated with 6OHDA+desipramine otherwise appeared indistinguishable from the control group in both VO and LO (Figure 5A). By contrast, a massive depletion (91% of depletion) is visible in group 6OHDA, where NA fibers were not protected by desipramine. The ANOVA on D β H fibers density in VO confirmed an effect of group ($F_{(2,26)} = 200.3$; $p < 0.0001$). Post-hoc tests indicated that the 6OHDA group was significantly different than both control and 6OHDA+Desipramine groups (Bonferroni/Dunn test; $p < 0.0001$). No difference was found between control and 6OHDA+Desipramine groups (Bonferroni/Dunn test; ns). A similar effect of group was found in LO ($F_{(2,26)} = 231.2$; $p < 0.0001$). Post-hoc tests revealed again a significant difference between 6OHDA and both control and 6OHDA+Desipramine (Bonferroni/Dunn test, $p < 0.0001$), and no difference between control and 6OHDA+Desipramine groups (Bonferroni/Dunn test, ns). The same pattern of depletion can be observed along the anteroposterior axis (Supplementary Figure 3A).

These data indicate in the 6-OHDA group an equivalent level of NA depletion in the OFC as in Experiment 1. The data furthermore, indicate that the desipramine pre-treatment effectively protected noradrenergic fibers.

In non-targeted prefrontal regions (Figure 5B), no depletion can be seen in the desipramine-treated group, but a significant D β H fiber loss is visible in the 6OHDA group. This loss (45% depletion) is less marked than that seen with anti-D β H saporin in Experiment 1. The ANOVA confirmed an effect of group in MO ($F_{(2,25)} = 40.0$; $p < 0.0001$) and both medial prefrontal areas, A32d ($F_{(2,26)} = 48.3$; $p < 0.0001$) and A32v ($F_{(2,26)} = 67.0$; $p < 0.0001$). Post-hoc tests highlighted the same pattern in all three regions. A significant difference was found between the 6OHDA group and both control and 6OHDA+Desipramine groups

(Bonferroni/Dunn test, $p < 0.0001$), and no difference was found between control and 6OHDA+Desipramine groups (Bonferroni/Dunn test, ns).

To assess dopaminergic depletion, we additionally performed TH immunostaining as shown in Figure 5C, D. Illustrative microphotographs are shown in the bottom panels. The overall TH-immunoreactive fiber density in VO and LO is shown in Figure 5C. TH-immunoreactive fiber loss is apparent not only in the 6OHDA group, but also to a lesser extent in the desipramine+6OHDA group, the latter reflecting the loss of only dopaminergic fibers. The ANOVA on fiber density revealed a group effect in VO ($F_{(2,26)} = 18.3$; $p < 0.0001$) as well as in LO ($F_{(2,26)} = 33.9$; $p < 0.0001$). Further post hoc tests revealed a significant difference between fiber density in control and 6OHDA+Desipramine (Bonferroni/Dunn test, $p = 0.037$ in VO, $p < 0.0001$ in LO) as well as between control and 6OHDA group (Bonferroni/Dunn test; $p < 0.0001$ in VO and LO). In addition, 6OHDA+Desipramine was significantly different than 6OHDA group (Bonferroni/Dunn test; $p = 0.001$ in VO, $p = 0.022$ in LO). The same pattern of depletion can be observed along the anteroposterior axis (Supplementary Figure 3B). These results confirm that the injection of 6OHDA in OFC induced dopaminergic and noradrenergic depletion and that the protective properties of desipramine were specific to noradrenergic neurons.

In non-targeted regions (Figure 5D), a similar pattern of depletion was found, although much less marked (21% depletion in MO, 28% in mPFC). The ANOVA revealed a group effect in MO ($F_{(2,26)} = 4.01$; $p = 0.03$), A32d ($F_{(2,26)} = 6.80$; $p = 0.004$) and A32v ($F_{(2,26)} = 4.40$; $p = 0.023$). Post-hoc tests highlighted in MO a significant difference between control and 6OHDA groups (Bonferroni/Dunn test, $p = 0.009$). In A32d, the 6OHDA group was significantly different than control (Bonferroni/Dunn test, $p = 0.002$) and 6OHDA+Desipramine (Bonferroni/Dunn test, $p = 0.012$) groups. Similarly, in A32v, a significant difference between 6OHDA group and both control and 6OHDA+Desipramine groups was found (Bonferroni/Dunn test, $p < 0.05$). Although depletion is still observable, it is largely reduced in these non-targeted regions.

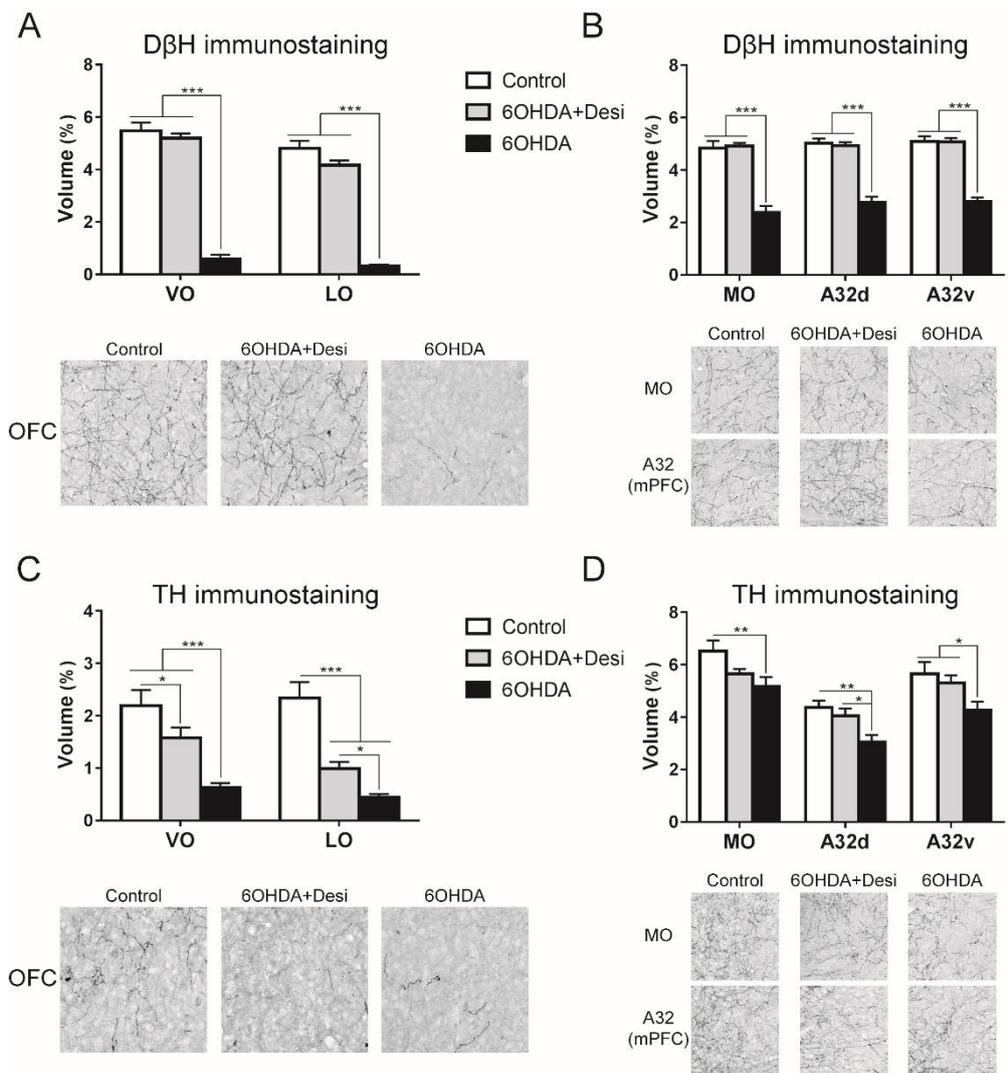


Figure 5. Noradrenergic and dopaminergic depletion in the OFC. **A.** Noradrenergic fiber loss in orbitofrontal cortex. DβH immunostained fibers in VO and LO regions of rats injected in the OFC with 6-OHDA with or without noradrenergic protection by desipramine (Desi). 6-OHDA alone induced a major loss (92%) of fibers in both regions, but no loss occurred in the 6-OHDA+Desipramine group. Bottom panels: representative microphotographs of DβH immunostained slices (square size: 300 x 300 μm). **B.** Noradrenergic Fiber loss in non-targeted regions MO and mPFC (A32d, A32v). The same injections in the OFC induced loss of 45% of DβH immunostained fibers in MO and mPFC of 6-OHDA injected rats, presumably because of branching projections to both OFC and mPFC. No loss occurs under protection by desipramine. Bottom panels: representative microphotographs of DβH immunostained slices (square size: 300 x 300 μm). **C.** TH immunostained fibers in VO and LO regions of the same rats. The fiber loss in the 6-OHDA+Desipramine group corresponds to loss of dopaminergic fibers only. Bottom panels: representative microphotographs of TH immunostained slices (square size: 300 x 300 μm). **D.** TH immunostained fibers in non-targeted MO and mPFC regions of the same rats. 6-OHDA alone produced 21% depletion in MO and 28% depletion in mPFC. Loss was reduced in the desipramine-protected group. Bottom panels: representative microphotographs of TH immunostained slices (square size: 300 x 300 μm).

Behavioural results

Figure 6A illustrates the experimental design used in Experiment 3. The different stages of training and testing were identical to those in Experiments 1 and 2 (Post groups). Thus, surgery was performed after the initial phase for all animals.

Outcome devaluation test after initial training

Prior to surgery, rats were submitted to the initial training and outcome devaluation test. Results are shown in Figure 6B. As reported for intact rats in the previous experiments, the lever pressing response was sensitive to devaluation. Separate ANOVAs run on each group revealed that outcome-specific devaluation was effective in all pre-operative groups (control: $F_{(1,15)} = 24.2$; $p = 0.0002$; 6OHDA+Desipramine: $F_{(1,8)} = 29.5$; $p = 0.0006$; 6OHDA: $F_{(1,11)} = 42.3$; $p < 0.0001$). The efficacy of satiety-induced outcome devaluation was confirmed during the consumption test during which all animals consumed more of the non-devalued outcome (Supplementary Table 1). ANOVA confirmed the effect of devaluation $F_{(2,34)} = 55.7$; $p < 0.0001$) on consumption but no interaction with group ($F_{(2,34)} = 0.8$; ns). Thus, dopaminergic or noradrenergic depletion had no effect on the acquisition or expression of goal-directed behaviors in the initial phase.

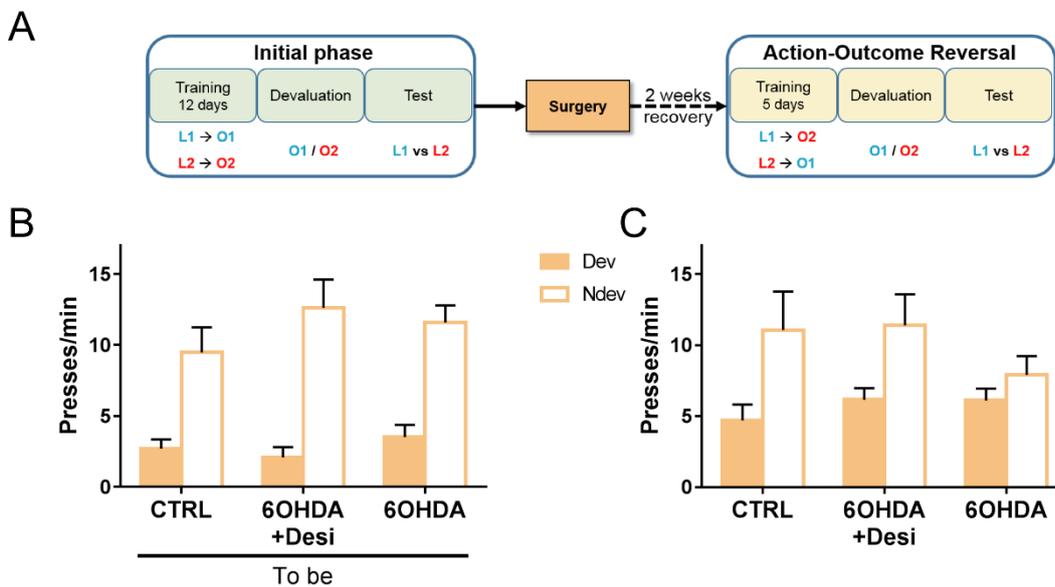


Figure 6. Behavioral effects of noradrenergic and dopaminergic depletion. **A.** Schematic representation of the training and testing phases. Surgery was performed after the initial phase for all rats. **B.** Initial devaluation test. In all groups, pressing on the devalued lever (Dev) decreases after sensory-specific satiety as compared to the non-devalued lever (Ndev). **C.** Devaluation test after reversal. Noradrenergic+dopaminergic depletion with 6-OHDA impairs the sensitivity to devaluation of the instrumental response after reversal. No deficit is observed after selective dopaminergic depletion in the desipramine-protected group. 5 minutes main data.

Outcome devaluation test after reversal training

Following surgery, rats were trained on reversed associations then given the outcome devaluation test (Figure 6C). Separate ANOVAs shows that control and 6OHDA+Desipramine groups still responded more on the lever associated with the non-devalued outcome ($F_{(1,15)} = 5.71$; $p = 0.03$ and $F_{(1,8)} = 4.64$; $p = 0.04$, respectively). However, no outcome devaluation effect was found in the 6OHDA group in which NA fibers were not protected ($F_{(1,11)} = 1.46$; ns). This failure of 6OHDA rats to show a devaluation effect was

not attributable to a difference in satiety since all groups ate more non-devalued food than devalued food during the choice consumption test (Supplementary Table 1). Indeed, statistical analyses revealed a significant effect of devaluation ($F_{(2,34)} = 213.8$; $p < 0.0001$) on consumption. This factor did not interact with group ($F_{(2,34)} = 0.8$; ns). This result confirms that in the OFC, noradrenergic modulation, but not dopaminergic modulation is needed for adaptation to outcome identity reversal.

DISCUSSION

The current results provide evidence supporting a role of noradrenergic innervation of the orbitofrontal cortex in controlling the flexibility of goal-directed behavior. Experiment 1 demonstrates that animals with a loss of noradrenergic inputs in the OFC can initially learn and express action–outcome contingencies, but are impaired when those contingencies are reversed. It is likely that such deficits result from an impaired reversal learning given that post initial learning training and testing lesions have a similar impact as pre lesions. Experiment 2 extends the results of Experiment 1 by showing that a loss in noradrenergic inputs to the medial prefrontal cortex was without an effect on both initial encoding and reversal learning therefore suggesting an important anatomical specificity. Finally, Experiment 3 shows that a loss of dopaminergic inputs to the OFC has no effect on reversal learning, demonstrating a selectivity in the neuromodulatory impact of the OFC-NA system.

Fiber loss

In the present study, we achieved a lesion of NA inputs using neurochemical toxins (anti-D β H saporin in Experiment 1 and 2 and 6-OHDA in Experiment 3). This lesioning approach led to a dramatic decrease in NA fiber density in the OFC (Experiment 1 and 3) as well as in non-targeted medial regions in Experiment 1. These data might be due to overlap between LC's projections to the mPFC and OFC, however divergent prefrontal projections from the LC seems to be limited (Chandler et al 2013, Foote et al 1983, Fuxe et al 1968, Levitt & Moore 1978, Lewis & Morrison 1989, Morrison et al 1978, Uematsu et al 2017). It is more likely that this effect was due to a substantial portion of NA fibers to the mPFC crossing the OFC, as previously discussed (Cerpa et al 2019). Unfortunately, the same toxin led to a less dramatic, but significant, decrease when injected in the mPFC (Experiment 2). In this case, fibers in the OFC were not affected except in VO. Given that fibers cross VO before reaching upstream target such as mPFC, it is likely that this loss in VO concerned these fibers of passage. Based on these data, we cannot rule out the possibility that a greater depletion in mPFC in Experiment 1 might be the source of the behavioural effect. However, Experiment 3 gives credit to our interpretation regarding the

specific involvement of OFC. Indeed, injection of 6OHDA in the OFC led to a similar decrease in OFC but a smaller decrease in mPFC than in Experiment 1. Depletion in mPFC was rather similar to the loss observed in Experiment 2. Given that we do obtained a behavioural effect in this experiment, it is very likely that the main factor in our study was the depletion of NA in OFC.

Nevertheless, toxin-mediated depletion in OFC led constantly to a decrease in mPFC. The variation between Experiment 1 and 3 might be due to mechanistic difference between anti-D β H saporin and 6OHDA. Therefore in order to obtain a sufficient spatial specificity, other methods must be considered in the future.

Flexible goal-directed behavior

At the behavioral level, the results of the control rats replicate our previous studies (Fresno et al 2019, Parkes et al 2018). Rats were trained to press two different levers to obtain two different pellets outcomes. Following this initial training, they were given a first outcome devaluation test which showed that they have correctly encoded the action-outcome relationship. They were then trained on reversed contingencies, and the results of a subsequent outcome devaluation test showed that the animals encoded the new contingencies, therefore demonstrating their ability to flexibility adapt to a change in the environment. Using a similar design, past research (Bradfield & Balleine 2017) has shown that reversal learning performance is the result of updating prior existing action-outcome contingencies without unlearning the initial ones. In other words, the animals build a partition between a state for the new contingencies and the initial state of old contingencies. This partition is believed to provide a critical way of reducing interference. Current research (McDannald et al 2011, Sadacca et al 2016, Wikenheiser & Schoenbaum 2016) has proposed that the OFC is critically involved in the partition of information when task states change without explicit notice (Wilson et al 2014). Consistent with this view, we recently showed that chemogenetic inhibition of the OFC (ventral and lateral) alter responding following identity reversal (Parkes et al 2018) In the present study, we found a similar deficit following lesion of NA inputs to the OFC. Importantly, our results showed that this deficit was present following pre- and post- initial training, which indicate that NA-OFC might be involved in state creation. Such a proposal is in accordance with popular theories of LC-NA system which suggest that a rise in NA activity allows for behavioral flexibility when a change in contingencies is detected (Aston-Jones et al 1997, Bouret & Sara 2005, Sadacca et al 2016).

NA-OFC vs NA-mPFC

Contrary to NA inputs to the OFC, our results show that NA input to the mPFC is not required for the adequate responding to either the old contingencies or to new ones. These data add to the current literature indicating a major dissociation in the role of NA inputs to different prefrontal regions (Robbins & Arnsten 2009). Indeed, various research has demonstrated that the NA-mPFC is required for attentional regulation since lesioning NA inputs (McGaughy et al 2008, Newman et al 2008) or chemogenetic inhibition of NA-mPFC (Cope et al 2019) alter attentional set shifting capabilities, while NA recapture inhibition using atomoxetine improves it (Newman et al 2008). Similar systematic investigation is not yet available but OFC NA depletion has been reported to alter cue-outcome reversal, but not dimensional shift, in an attentional set-shifting task (Mokler et al 2017).

NA-OFC vs DA-OFC

In addition to anatomical selectivity to the OFC system, our results also demonstrate that NA- but not DA-dependent mechanisms are required during reversal of goal-directed behavior. The role of cortical DA-dependent mechanisms in goal-directed behavior is still at present poorly understood. However, we previously demonstrated that dopaminergic signaling in the mPFC plays a critical role in the detection of contingency degradation (Naneix et al 2009). Such detection is likely to involve the processing of non-expected rewards which induces, at the level of mPFC, a DA-dependent reward prediction error signal (Montague et al 2004, Schultz & Dickinson 2000). Taken together, these results raise the intriguing possibility that the coordination of goal directed behavior under environmental changes might depend on a DA-mPFC system for managing contingency degradation and NA-OFC system for managing contingency reversal.

Conclusion

Our results confirm the involvement of ventral and lateral OFC in the updating and use of new action-outcome associations and provide evidence that the LC-NA system is critical. Recent research have revealed a remarkable parcellation of cortical functions in goal-directed action. Our study provides a basis for an in-depth understanding of the neuromodulatory systems involved in these functions.

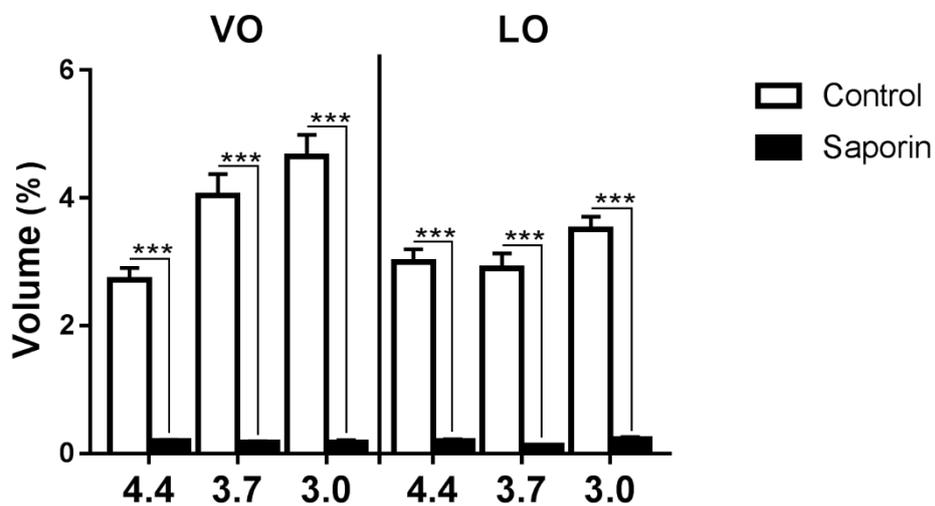
FUNDING

This work was supported by the French National Research Agency (CE37-0019 NORAD to E.C.); and by the Fondation pour la Recherche Médicale (FRM grant number ECO20160736024 to J-C.C).

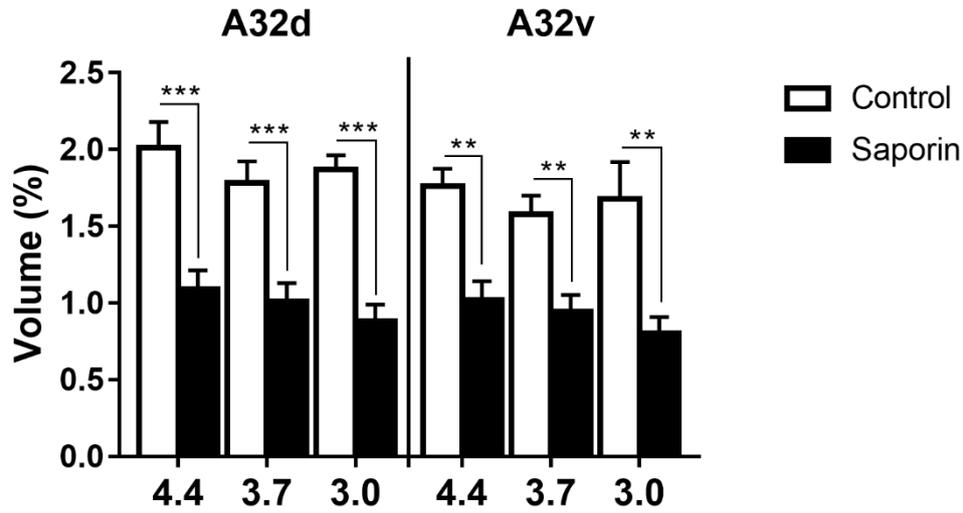
ACKNOWLEDGMENTS

Microscopy was completed at the Bordeaux Imaging Center, a service unit of CNRS-INSERM and Bordeaux University and member of the national infrastructure, France BioImaging. We thank Yoan Salafranque for his expert animal care.

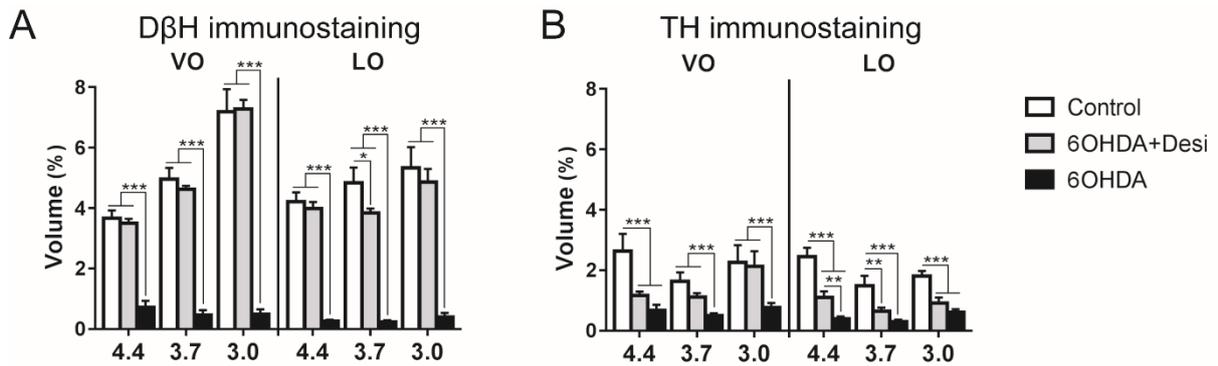
SUPPLEMENTARY FIGURES



Supplementary Figure 1. Effects of anti-D β H saporin along the extent of the OFC. Noradrenergic fiber loss along the anteroposterior axis of VO and LO of rats injected in the OFC with inactive anti-IgG (Control) or active anti-D β H saporin (Saporin). Saporin induced a massive loss (95%) of fibers in both regions at all coordinates (in mm relative to Bregma).



Supplementary Figure 2. Effects of anti-D β H saporin along the extent of the mPFC. Noradrenergic fiber loss along the anteroposterior axis of A32d and A32v of rats injected in the mPFC with inactive anti-IgG(Control) or active anti-D β H saporin (Saporin). Saporin induced a significant loss (50%) of fibers in both regions at all coordinates (in mm relative to Bregma).



Supplementary Figure 3. Effects of 6-OHDA along the extent of the OFC. Fiber loss along the anteroposterior axis of VO and LO of rats injected in the OFC with 6-OHDA, with or without protection by desipramine. **A.** D β H-immunoreactive fibers. No loss is observed in the desipramine-protected group. **B.** TH-immunoreactive fibers. Fiber loss in the desipramine-protected group corresponds to dopaminergic fibers.

		Initial phase		Reversal phase	
		Devalued (g)	Non devalued (g)	Devalued (g)	Non devalued (g)
Experiment 1	Pre CTRL	0.2 (± 0.183)	3.4 (± 0.8)	0.3 (± 0.2)	1.5 (± 0.2)
	Pre SAP	0.01 (± 0.01)	2.7 (± 0.4)	0.03 (± 0.02)	2.2 (± 0.5)
	Post CTRL	0.1 (± 0.1)	1.6 (± 0.1)	0.0 (± 0.0)	2.2 (± 0.6)
	Post SAP	0.0 (± 0.0)	2.9 (± 0.7)	0.09 (± 0.07)	2.6 (± 0.6)
Experiment 2	Pre CTRL	0.06 (± 0.05)	2.6 (± 0.4)	0.02 (± 0.01)	2.2 (± 0.5)
	Pre SAP	0.01 (± 0.01)	2.5 (± 0.2)	0.07 (± 0.03)	2.3 (± 0.5)
	Post CTRL	0.02 (± 0.01)	2.4 (± 0.3)	0.06 (± 0.04)	2.3 (± 0.4)
	Post SAP	0.03 (± 0.02)	3.1 (± 0.5)	0.07 (± 0.04)	2.7 (± 0.4)
Experiment 3	CTRL	0.01 (± 0.01)	1.6 (± 0.3)	0.08 (± 0.05)	3.4 (± 0.4)
	6OHDA+D	0.02 (± 0.02)	1.9 (± 0.4)	0.08 (± 0.05)	4.03 (± 0.3)
	6OHDA	0.3 (± 0.2)	2.6 (± 0.5)	0.2 (± 0.2)	4.3 (± 0.5)

Supplementary Table 1. Choice consumption tests in Experiment 1, 2 and 3. Amount of devalued and non-devalued food (mean \pm SEM) consumed during the consumption tests after sensory-specific satiety, at the end of the initial phase and the reversal phase.

REFERENCES

- Agster KL, Mejias-Aponte CA, Clark BD, Waterhouse BD. 2013. Evidence for a regional specificity in the density and distribution of noradrenergic varicosities in rat cortex. *J Comp Neurol* 521: 2195-207
- Aston-Jones G, Rajkowski J, Kubiak P. 1997. Conditioned responses of monkey locus coeruleus neurons anticipate acquisition of discriminative behavior in a vigilance task. *Neuroscience* 80: 697-715
- Balleine BW, Dickinson A. 2000. The effect of lesions of the insular cortex on instrumental conditioning: evidence for a role in incentive memory. *J Neurosci* 20: 8954-64
- Bouret S, Sara SJ. 2004. Reward expectation, orientation of attention and locus coeruleus-medial frontal cortex interplay during learning. *J Neurosci* 20: 791-802
- Bouret S, Sara SJ. 2005. Network reset: a simplified overarching theory of locus coeruleus noradrenaline function. *Trends Neurosci* 28: 574-82
- Bradfield LA, Balleine BW. 2017. Thalamic Control of Dorsomedial Striatum Regulates Internal State to Guide Goal-Directed Action Selection. *J Neurosci* 37: 3721-33
- Cerpa JC, Marchand AR, Coutureau E. 2019. Distinct regional patterns in noradrenergic innervation of the rat prefrontal cortex. *J Chem Neuroanat* 96: 102-09
- Chandler DJ, Lamperski CS, Waterhouse BD. 2013. Identification and distribution of projections from monoaminergic and cholinergic nuclei to functionally differentiated subregions of prefrontal cortex. *Brain Res* 1522: 38-58
- Cope ZA, Vazey EM, Floresco SB, Aston Jones GS. 2019. DREADD-mediated modulation of locus coeruleus inputs to mPFC improves strategy set-shifting. *Neurobiol Learn Mem* 161: 1-11
- Corbit LH, Balleine BW. 2003. The role of prelimbic cortex in instrumental conditioning. *Behav Brain Res* 146: 145-57
- Coutureau E, Parkes SL. 2018. Cortical Determinants of Goal-Directed Behavior In *Goal-Directed Decision Making*, ed. R Morris, A Bornstein, A Shenhav, pp. 179-97: Academic Press
- Foote SL, Bloom FE, Aston-Jones G. 1983. Nucleus locus ceruleus: new evidence of anatomical and physiological specificity. *Physiol Rev* 63: 844-914
- Fresno V, Parkes SL, Faugere A, Coutureau E, Wolff M. 2019. A thalamocortical circuit for updating action-outcome associations. *Elife* 8
- Fuxe K, Hamberger B, Hokfelt T. 1968. Distribution of noradrenaline nerve terminals in cortical areas of the rat. *Brain Res* 8: 125-31
- Jahn CI, Gilardeau S, Varazzani C, Blain B, Sallet J, et al. 2018. Dual contributions of noradrenaline to behavioural flexibility and motivation. *Psychopharmacology (Berl)* 235: 2687-702
- Killcross S, Coutureau E. 2003. Coordination of actions and habits in the medial prefrontal cortex of rats. *Cereb Cortex* 13: 400-8
- Levitt P, Moore RY. 1978. Noradrenaline neuron innervation of the neocortex in the rat. *Brain Res* 139: 219-31

- Lewis DA, Morrison JH. 1989. Noradrenergic innervation of monkey prefrontal cortex: a dopamine-beta-hydroxylase immunohistochemical study. *J Comp Neurol* 282: 317-30
- McDannald MA, Lucantonio F, Burke KA, Niv Y, Schoenbaum G. 2011. Ventral striatum and orbitofrontal cortex are both required for model-based, but not model-free, reinforcement learning. *J Neurosci* 31: 2700-5
- McGaughy J, Ross RS, Eichenbaum H. 2008. Noradrenergic, but not cholinergic, deafferentation of prefrontal cortex impairs attentional set-shifting. *Neuroscience* 153: 63-71
- Mokler DJ, Miller CE, McGaughy JA. 2017. Evidence for a role of corticopetal, noradrenergic systems in the development of executive function. *Neurobiol Learn Mem* 143: 94-100
- Montague PR, Hyman SE, Cohen JD. 2004. Computational roles for dopamine in behavioural control. *Nature* 431: 760-7
- Morrison JH, Grzanna R, Molliver ME, Coyle JT. 1978. The distribution and orientation of noradrenergic fibers in neocortex of the rat: an immunofluorescence study. *J Comp Neurol* 181: 17-39
- Naneix F, Marchand AR, Di Scala G, Pape JR, Coutureau E. 2009. A role for medial prefrontal dopaminergic innervation in instrumental conditioning. *J Neurosci* 29: 6599-606
- Newman LA, Darling J, McGaughy J. 2008. Atomoxetine reverses attentional deficits produced by noradrenergic deafferentation of medial prefrontal cortex. *Psychopharmacology (Berl)* 200: 39-50
- O'Doherty JP, Cockburn J, Pauli WM. 2017. Learning, Reward, and Decision Making. *Annu Rev Psychol* 68: 73-100
- Parkes SL, Balleine BW. 2013. Incentive memory: evidence the basolateral amygdala encodes and the insular cortex retrieves outcome values to guide choice between goal-directed actions. *J Neurosci* 33: 8753-63
- Parkes SL, Bradfield LA, Balleine BW. 2015. Interaction of insular cortex and ventral striatum mediates the effect of incentive memory on choice between goal-directed actions. *J Neurosci* 35: 6464-71
- Parkes SL, Ravassard PM, Cerpa JC, Wolff M, Ferreira G, Coutureau E. 2018. Insular and Ventrolateral Orbitofrontal Cortices Differentially Contribute to Goal-Directed Behavior in Rodents. *Cereb Cortex* 28: 2313-25
- Paxinos G, Watson C. 2014. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates (Seventh edition)*. Academic Press. 472 pp.
- Robbins TW, Arnsten AF. 2009. The neuropsychopharmacology of fronto-executive function: monoaminergic modulation. *Annu Rev Neurosci* 32: 267-87
- Rolls BJ. 1986. Sensory-specific satiety. *Nutr Rev* 44: 93-101
- Sadacca BF, Wikenheiser AM, Schoenbaum G. 2016. Toward a theoretical role for tonic norepinephrine in the orbitofrontal cortex in facilitating flexible learning. *Neuroscience*
- Sara SJ, Bouret S. 2012. Orienting and reorienting: the locus coeruleus mediates cognition through arousal. *Neuron* 76: 130-41
- Schultz W, Dickinson A. 2000. Neuronal coding of prediction errors. *Annu Rev Neurosci* 23: 473-500

- Tait DS, Brown VJ, Farovik A, Theobald DE, Dalley JW, Robbins TW. 2007. Lesions of the dorsal noradrenergic bundle impair attentional set-shifting in the rat. *Eur J Neurosci* 25: 3719-24
- Tervo DGR, Proskurin M, Manakov M, Kabra M, Vollmer A, et al. 2014. Behavioral variability through stochastic choice and its gating by anterior cingulate cortex. *Cell* 159: 21-32
- Tran-Tu-Yen DA, Marchand AR, Pape JR, Di Scala G, Coutureau E. 2009. Transient role of the rat prelimbic cortex in goal-directed behaviour. *Eur J Neurosci* 30: 464-71
- Uematsu A, Tan BZ, Ycu EA, Cuevas JS, Koivumaa J, et al. 2017. Modular organization of the brainstem noradrenaline system coordinates opposing learning states. *Nat Neurosci* 20: 1602-11
- Wikenheiser AM, Schoenbaum G. 2016. Over the river, through the woods: cognitive maps in the hippocampus and orbitofrontal cortex. *Nat Rev Neurosci* 17: 513-23
- Wilson RC, Takahashi YK, Schoenbaum G, Niv Y. 2014. Orbitofrontal cortex as a cognitive map of task space. *Neuron* 81: 267-79

CHAPITRE 3

Rôle de la NA préfrontale dans le
contrôle temporel de la flexibilité
instrumentale

-Article 3: Targeting catecholaminergic systems in transgenic rats with a CAV-2 vector harbouring a Cre-dependent DREADD cassette

-Résultats préliminaires

Chapitre 3 :

Rôle de la NA préfrontale dans le contrôle temporel de la flexibilité instrumentale

Nous avons auparavant montré que l'inhibition pharmacogénétique du vOFC entraîne un déficit lors de l'inversion instrumentale, lorsque celui-ci est inhibé lors de l'étape d'acquisition des associations inverses mais également lorsqu'il est inhibé uniquement lors du test (Parkes et al 2018). L'article n°2 indique que les afférences noradrénergiques de l'OFC jouent un rôle spécifique lors de la phase d'inversion instrumentale. Néanmoins, comme toute approche lésionnelle, une déplétion définitive de ces afférences noradrénergiques ne permet pas de savoir si celles-ci sont impliquées lors de l'acquisition et/ou lors du test. Il était donc nécessaire d'affiner notre méthode afin de répondre à cette question. Pour cela, nous nous sommes tournés vers une approche pharmacogénétique (DREADD) qui permet d'avoir une résolution temporelle suffisante pour préciser l'implication des projections du LC vers l'OFC. L'approche DREADD peut se décliner en plusieurs méthodes variant dans leur spécificité spatiale et cellulaire (Runegaard et al 2019). Pour notre étude, nous avons envisagé plusieurs d'entre elles.

1) Stratégie 1

Une première stratégie a consisté à combiner deux vecteurs viraux. Cette stratégie a déjà été employée et validée dans une étude récente de l'équipe afin de cibler les voies réciproques entre le MD et le dmPFC (Alcaraz et al 2018). Cette stratégie consiste à injecter un vecteur viral AAV 'floxé', porteur d'un DREADD dont l'expression est Cre-dépendante, dans une structure A. Un vecteur viral CAV2-cre est injecté dans la structure cible des projections de A. Ainsi, la Cre-recombinase, amenée par transport rétrograde, permet le 'défloxage' de l'AAV. Par conséquent l'expression du DREADD sera spécifique à la voie neuronale entre A et sa structure cible (Figure 32A).

Méthodes

Des rats Long-Evans ont été anesthésiés et opérés comme décrit précédemment (Cerpa *et al.* 2019, Article n°2). Les vecteurs viraux CAV2 et AAV ont été microinjectés (UMP3-1 and Micro4 Controller, World Precision Instruments) *via* des seringues NanoFil munies d'une aiguille 33G. Afin de cibler la voie LC->OFC, 1 μ L du vecteur viral AAV8-hSyn-DIO-hM4Di-mCherry (titre : 0.6×10^{13} particules/mL, Viral Vector Production Unit, Universitat Autònoma de Barcelona) a été injecté unilatéralement dans le LC aux coordonnées (mm à partir du Bregma) : AP -9.8, ML +1.4, DV -7.2. Au cours de la même chirurgie, 1 μ L du vecteur viral CAV2-Cre (titre : 1.3×10^{12} , Biocampus PVM, Montpellier, France) a été injecté ipsilatéralement dans l'OFC aux coordonnées : AP +3.5, ML +2.2, DV -5.4. A la fin de l'injection, l'aiguille était maintenue en position pendant 5 minutes avant d'être lentement remontée. Suite à la chirurgie, les rats ont été maintenus en vie pendant 4 semaines afin de permettre la migration du CAV2 et une bonne expression de l'AAV. Les rats ont ensuite été sacrifiés et perfusés comme décrit précédemment (Cerpa *et al.* 2019, Article n°2). Les cerveaux ont été coupés en sections coronales de 40 μ m d'épaisseur avec un vibratome (VT1200S Leica Microsystems). Un marquage immunohistochimique a été réalisé en utilisant un anticorps primaire anti-RFP (PM005 MBL International Corporation). Le marquage a ensuite été révélé par une méthode immunohistochimique en visible avec de la diaminobenzidine (D5905 Sigma-Aldrich).

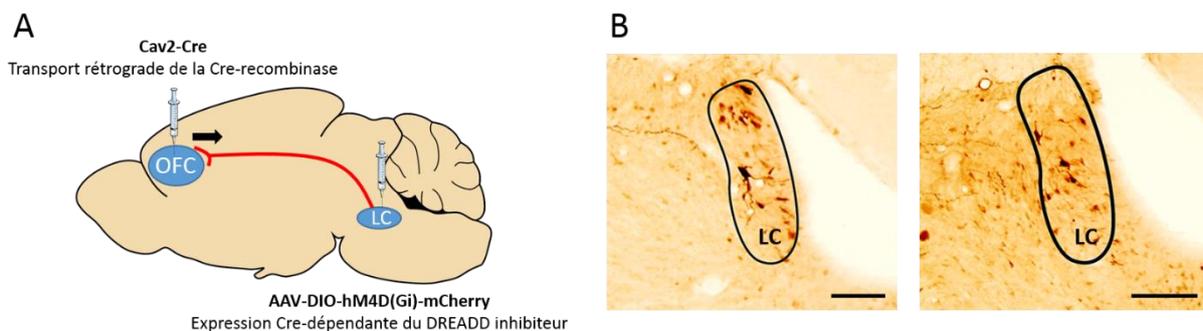


Figure 32. A. Représentation schématique de la stratégie de double vecteur viral utilisée pour cibler spécifiquement la voie entre le LC et l'OFC. B. Deux exemples représentatifs du marquage au niveau du LC. Echelle = 200 μ m.

Résultats

Les résultats de cette étude indiquent que cette stratégie est effective pour cibler des neurones de la voie LC-OFC, conformément aux résultats récents de l'équipe (Alcaraz *et al.* 2018). En effet, notre marquage révèle, en effet, une expression du DREADD dans le LC. Néanmoins, celle-ci ne concerne qu'un petit nombre de neurones (Figure 32B). Le principal problème de cette stratégie est qu'elle repose sur l'injection de deux vecteurs viraux augmentant ainsi la probabilité d'erreurs de placement et réduisant celle d'une interaction efficace entre les deux. Par ailleurs, nous avons éprouvé des difficultés

à obtenir un anticorps efficace pour le marquage de la Cre-recombinase, rendant compliquée la mise en évidence de l'étendue du site d'injection.

2) Stratégie 2

La stratégie 1, bien qu'efficace pour cibler la voie LC-OFC, ne nous est pas apparue optimale en raison du faible taux de neurones infectés. Cette limitation nous a amené à mettre au point un nouvel outil dans le cadre d'une collaboration avec le groupe d'E. Kremer (Montpellier). L'originalité de ce nouveau vecteur viral est que le DREADD inhibiteur (hM4Di) est véhiculé par le vecteur rétrograde Canine Adeno Virus 2 (CAV2). De plus, ce vecteur est « floxé », c'est-à-dire que l'expression de son matériel génétique est dépendant de la présence d'une Cre recombinase. Nous avons donc utilisé ce vecteur viral chez des animaux transgéniques TH-Cre, n'exprimant la Cre recombinase que dans les neurones TH positifs, c'est-à-dire les neurones dopaminergiques et noradrénergiques. Ainsi, cette méthode permet une infection de voies catécholaminergiques par une injection dans la région cible. La validation de cet outil fait l'objet d'une publication soumise à l'issue spéciale « Tropism, Mapping, Modeling, or Therapy Using Canine Adenovirus Type 2 (CAV-2) Vectors in the CNS » de *Frontiers in Molecular Neuroscience*.



Targeting catecholaminergic systems in transgenic rats with a CAV-2 vector harbouring a Cre-dependent DREADD cassette

Juan-Carlos Cerpa^{1,2}, Alain R. Marchand^{1,2}, Yoan Salafranque^{1,2}, Jean-Rémi Pape^{1,2}, Eric J. Kremer³, Etienne Coutureau^{1,2*}

¹CNRS, Institut de Neurosciences Cognitives et Intégratives d'Aquitaine, UMR 5287, 33076 Bordeaux, France

²Université de Bordeaux, 33076 Bordeaux, France

³Institut de Génétique Moléculaire de Montpellier, University of Montpellier, CNRS, Montpellier, France

***Correspondance:**

Etienne Coutureau

etienne.coutureau@cnrs.fr

Keywords: DREADD, CAV2, orbitofrontal cortex, striatum, dopamine, noradrenaline

Words count: 2553

Abstract (147 words)

Techniques that allow the manipulation of specific neural circuits have greatly increased in the past few years. DREADDs (Designer receptors exclusively activated by designer drugs) provide an elegant way to manipulate individual brain structures and/or neural circuits, including neuromodulatory pathways. Considerable efforts have been made to increase cell-

CAV-2 mediated hM4Di expression in catecholaminergic pathways

type specificity of DREADD expression while decreasing possible limitations due to multiple viral vectors injections. In line with this, a retrograde canine adenovirus type 2 (CAV-2) vector carrying a Cre-dependent DREADD cassette has been recently developed. In combination with Cre-driver transgenic animals, the vector allows one to target neuromodulatory pathways with cell-type specificity. In the present study, we specifically targeted catecholaminergic pathways by injecting the vector in knock-in rat line containing Cre recombinase cassette under the control of the tyrosine hydroxylase promoter. We assessed the efficacy of infection of the nigrostriatal pathway and the catecholaminergic pathways ascending to the orbitofrontal cortex and found cell-type specific DREADD expression.

Introduction (249 words)

Elucidation of neural circuits underlying complex animal behaviors depends on tools allowing control of neuronal activity. Designer receptors exclusively activated by designer drugs (DREADDs) technology (Roth 2016) has been extensively used to transiently modulate activity within brain systems (Parkes et al 2018, Smith et al 2016). Intersectional approaches permit refined chemogenetic manipulation of specific circuits by targeting projections-defined neurons. Indeed, combining the injection of a CAV-2 vector carrying a Cre recombinase expression cassette, in the target region of a pathway, with the injection of Cre-dependent DREADDs, in the region of origin, provides a way to investigate the impact of activation (or inhibition) of specific relationships between brain areas (Alcaraz et al 2018).

One of the main drawbacks of such a strategy is that it requires two vectors, which obviously increases the likelihood of injections misplacements and also raises the problem of the proportion of infected cells. To overcome these limitations, we report here a strategy that combines a single CAV-2 vector carrying a Cre-dependent DREADD cassette (CAV-hM4Di) and a Cre driver rat line. We assessed the efficacy of this method in the nigrostriatal dopaminergic pathway reaching the dorsolateral striatum (DLS), and the catecholaminergic

CAV-2 mediated hM4Di expression in catecholaminergic pathways

pathways reaching the orbitofrontal cortex (OFC). We injected CAV-hM4Di in either the DLS or the OFC of TH-Cre rats which express Cre-recombinase in dopaminergic and noradrenergic neurons. We show that this new CAV2-based viral vector can specifically and effectively transduce catecholaminergic neurons with both projection and neuronal specificity.

Material and Methods (888 words)

Animals and housing conditions

Animal were 6 male heterozygous TH-Cre⁺ rats on a Long-Evans background (Long Evans-Tg(TH-Cre)3.1Deis) as well as 2 transgene-negative TH-Cre⁻ littermates, bred in our laboratory, and 1 male Long Evans rat (wild-type) obtained from Centre d'Élevage Janvier (France). Rats were aged 4 months at the time of experiment and housed in pairs with *ad libitum* access to food and water. The facility was maintained at 21 ± 1 °C with lights on from 08:00 to 20:00. Environmental enrichment was provided by orange-tinted polycarbonate tubing elements, in accordance with current French (Council directive 2013-118, February 1, 2013) and European (directive 2010-63, September 22, 2010, European Community) laws and policies regarding animal experiments.

Viral vector

An E1/E3-deleted, replication-defective, CAV-2 vector carrying double-inverted flox sites flanking a hM4Di-mCherry fusion protein expression cassette (CAV-DIO-hM4Di-mCherry, concentration 1 x 10¹² particles/ml) was obtained from Biocampus PVM, Montpellier, France. The vector will be thereafter mentioned as CAV-hM4Di.

Surgery

Rats were anesthetized with 5% isoflurane and placed in a stereotaxic frame with atraumatic ear bars (Kopf Instruments) in a flat skull position. Anesthesia was maintained with 1.5% isoflurane and complemented with a subcutaneous injection of analgesic ropivacaine (a bolus of 0.1mL at 2mg/mL) at the incision locus. Intracerebral injections were made with a pump

CAV-2 mediated hM4Di expression in catecholaminergic pathways

(UMP3-1 and Micro4 Controller, World Precision Instruments) *via* a 10 μ l NanoFil syringe with a blunt, 34G needle. In the case of TH-Cre⁺ rats, 1 μ l of CAV-hM4Di was injected unilaterally at two sites of the orbitofrontal cortex (OFC). Coordinates were: +4.2 antero-posterior (AP); \pm 1.6 medio-lateral (ML); -5 dorso-ventral (DV) and +3.2 AP; \pm 2.4 ML; -5.6 DV. For dorsolateral striatum (DLS), 1 μ l of CAV-hM4Di was injected unilaterally at one site. Coordinates were: +0.7 AP; \pm 3.6 ML; -5 DV. In the case of transgene-negative littermate TH-Cre⁻ and wild-type rats, 1 μ l of CAV-hM4Di was injected unilaterally at one site of the OFC. Coordinates were +3.5 AP; +2.2 ML; -5.4 DV. All coordinates are given in millimeters from bregma (Paxinos & Watson 2014). Infusion were made at a rate of 200 nl/min and the pipette was left in place for an additional five min to allow diffusion of the virus. During recovery, rats were monitored and weighed daily. For an optimal migration and expression of the hM4Di-mCherry, we waited four weeks before perfusion.

Immunohistochemistry

Rats were rapidly and deeply anaesthetized with an overdose of sodium pentobarbital (Exagon® Euthasol) and perfused transcardially with 60 ml of saline followed by 260 ml of 4% paraformaldehyde (PFA) in 0.1 M phosphate buffer (PB). Brains were removed and postfixed in the same PFA solution overnight and then transferred to a 0.1 M PB solution. Subsequently, 40- μ m-thick coronal sections were cut using a VT1200S Vibratome (Leica Microsystems). To form a series, every fourth section was collected into a cryoprotective solution and stored at -20°C. Fluorescent immunoreactivity was performed for mCherry and tyrosine hydroxylase (TH). Free-floating sections were first rinsed in phosphate buffer saline (PBS) 0.1 M (4 x 5min) and then incubated in a blocking solution (PBS 0.1M, 0.3% Triton X-100, 3% of goat serum) for 1 h. Sections were then incubated with both primary antibodies rabbit anti-RFP (1/1000 in blocking solution, PM005 MBL International Corporation) and monoclonal mouse anti-TH (1/2500 in blocking solution, MAB318 Merck Millipore), for 48 h at 4 °C on a shaker. After

CAV-2 mediated hM4Di expression in catecholaminergic pathways

further rinses in PBS 0.1 M (4 x 5 min), sections were placed for 2 h in a bath containing both secondary antibodies Rhodamine TRITC goat anti-rabbit (1/200 in PBS 0.1M, Jackson ImmunoResearch, code 111-025-003) and FITC goat anti-mouse (1/200 in PBS 0.1M, Jackson ImmunoResearch, code 115-095-003) for 90 min on a shaker at room temperature. Following rinses in PBS 0.1 M (4x5 min), they were then incubated with Hoescht solution for counterstaining (1/5000 in PBS 0.1 M, bisBenzimide H 33258, Sigma Aldrich, B2883) for 15 min on a shaker at room temperature. Finally, sections were rinsed with PBS 0.1 M, mounted in PB 0.05 M onto gelatin-coated slides and coverslipped with Fluoromount G (SouthernBiotech, 0100-01). Sections were then imaged using an Olympus IX81 microscope and acquire *via* MicroManager Software.

For visible immunostaining, sections were rinsed in PBS 0.1 M containing 0.3% Triton X-100 (PBST; 4 x 5min) and then incubated in PBST containing 1% hydrogen peroxide solution (H₂O₂) for 30 min. Further rinses were performed using PBST (4x5min) before incubation in blocking solution for 1 h at room temperature. Then, sections were incubated in primary antibody rabbit anti-RFP (1/2500 in blocking solution, PM005 MBL International Corporation) for 48h at 4°C on a shaker. After further rinses in PBS 0.1 M (4x5min), sections were placed for 2h in a bath containing biotinylated goat anti-rabbit secondary antibody (1/1000 in PBS 0.1M, 111-065-003 Jackson ImmunoResearch) for 90 min at room temperature. Following rinses in PBS 0.1 M (4x5min), they were then incubated with avidin-biotin-peroxydase complex (1/200 in PBS 0.1 M, 32020 ThermoFisher Scientific) for 90 min at room temperature. The final staining was made with a diaminobenzidine (DAB, 10mg tablet, D5905 Sigma-Aldrich) dissolved in 50 mL of Tris buffer (TB) 0.05 M and 30 µL H₂O₂. Sections were then rinsed in TB 0.05 M (2 x 5 min) and then PB 0.05 M (2 x 5min). They were collected on gelatin-coated slides, dehydrated with xylene, mounted and coverslipped using Eukitt mounting medium.

CAV-2 mediated hM4Di expression in catecholaminergic pathways

Sections were scanned using a Nanozoomer slide scanner (Hamamatsu Photonics) with 20x lens and analyzed with the NDP.view 2 freeware (Hamamatsu Photonics).

Results (370 words)

Targeting dopaminergic pathway reaching the dorsolateral striatum

It has extensively been shown that the substantia nigra pars compacta (SNc) sends major projections to the dorsal striatum (Fallon & Moore 1978). In order to selectively target this nigrostriatal pathway we injected CAV-hM4Di into the DLS of TH-Cre⁺ rats (Figure 1A). As expected, this manipulation resulted in a strong expression of mCherry in cell bodies located in the SNc (Figure 1B). Moreover, the localization of these stained body cells corresponded to the localization of TH-positive cells as shown in Figure 1B, suggesting that neurons expressing mCherry are primarily dopaminergic cells. The same Figure shows that dopaminergic cells in the Ventral Tegmental Area, which do not target the DLS, did not express mCherry. Consistent with the latter, we did not observe labelled cells elsewhere in the brain. Interestingly, after a single injection into the DLS, staining of cells covered a substantial distance along the rostro-caudal axis of the SNc (Figure 1C). Indeed, strong mCherry labelling of cells was found at AP-4.7 mm (from bregma) in all cases, and numerous mCherry positive cells were found even more posteriorly at AP -6.2 mm (from Bregma) in at 2 out of 3 cases.

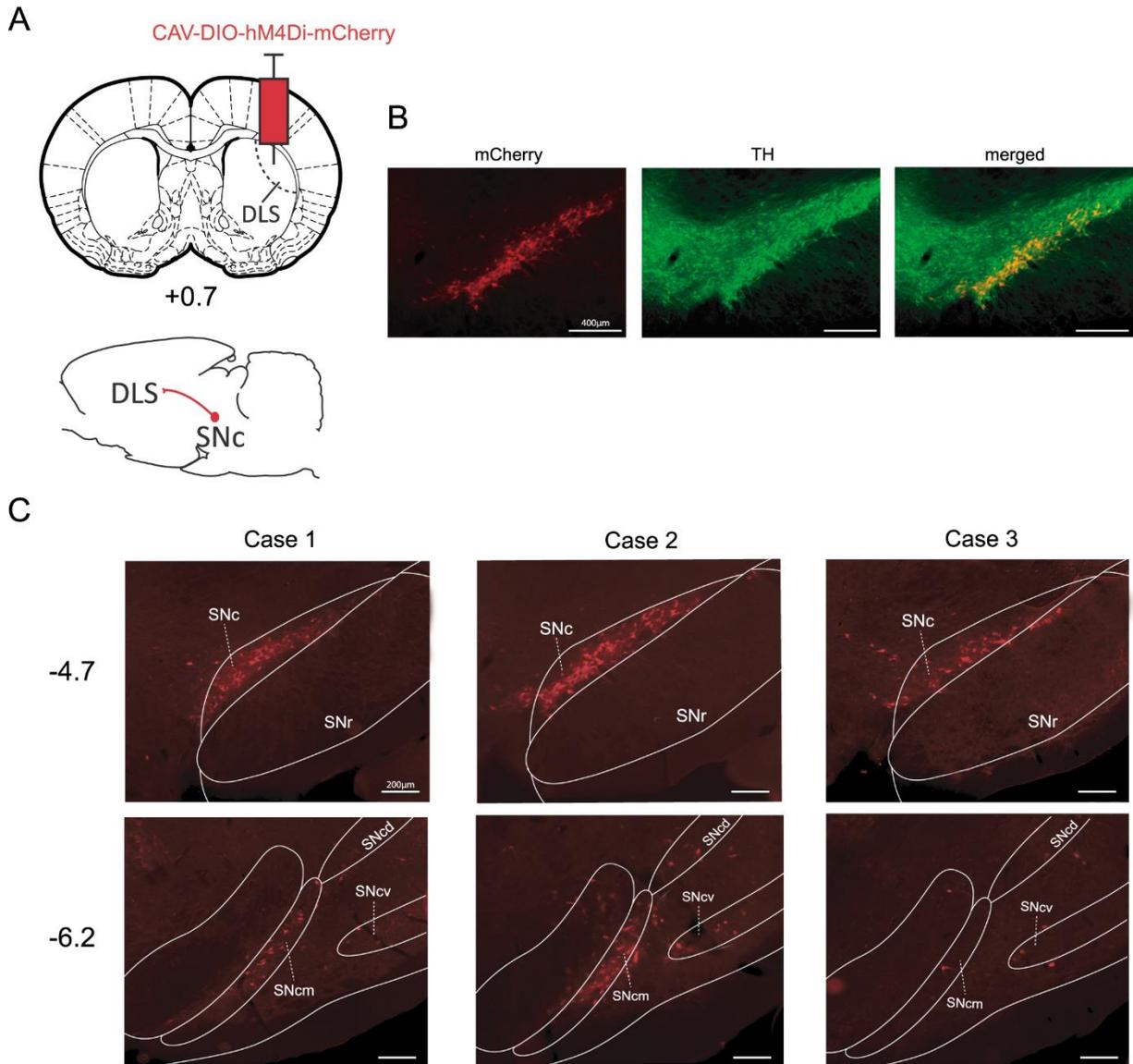


Figure 1. Use of CAV-hM4Di to target the nigrostriatal pathway. (A) Schematic illustration of viral vector injection into the DLS to selectively infect nigrostriatal neurons. (B) Example of staining obtained in the SNc for mCherry-positive and TH-positive neurons (Case 2, AP -4.7mm). (C) Staining in SN for all pilot cases at two different antero-posterior coordinates taken from Bregma (AP -4.7 mm and AP -6.2 mm). DLS : dorsolateral striatum; SNc : substantia nigra pars compacta; SNcm,d,v : substantia nigra pars compacta, medial tier, dorsal tier and ventral tier respectively.

Targeting catecholaminergic pathways ascending into the orbitofrontal cortex

To infect catecholaminergic pathways reaching the OFC, we injected CAV-hM4Di in the ventral and lateral portions of OFC (Figure 2A). We found substantial labelled neurons in the locus coeruleus (LC). The localization of stained cells corresponded to TH-positive cells which are noradrenergic in the LC (Figure 2B). In all cases, we observed mCherry staining along

CAV-2 mediated hM4Di expression in catecholaminergic pathways

central portion of LC. Indeed, as observed in Figure 2C, stained cells were mostly located from AP -9.6mm to -9.96mm (from Bregma). However, regarding dopaminergic pathway reaching the OFC, we found no staining or very few stained cells in the VTA (Figure 2D). Again, there was no evidence of labelled cells elsewhere in the brain, suggesting that the floxed hM4Di-mCherry cassette was inverted selectively in Cre-expressing cells.

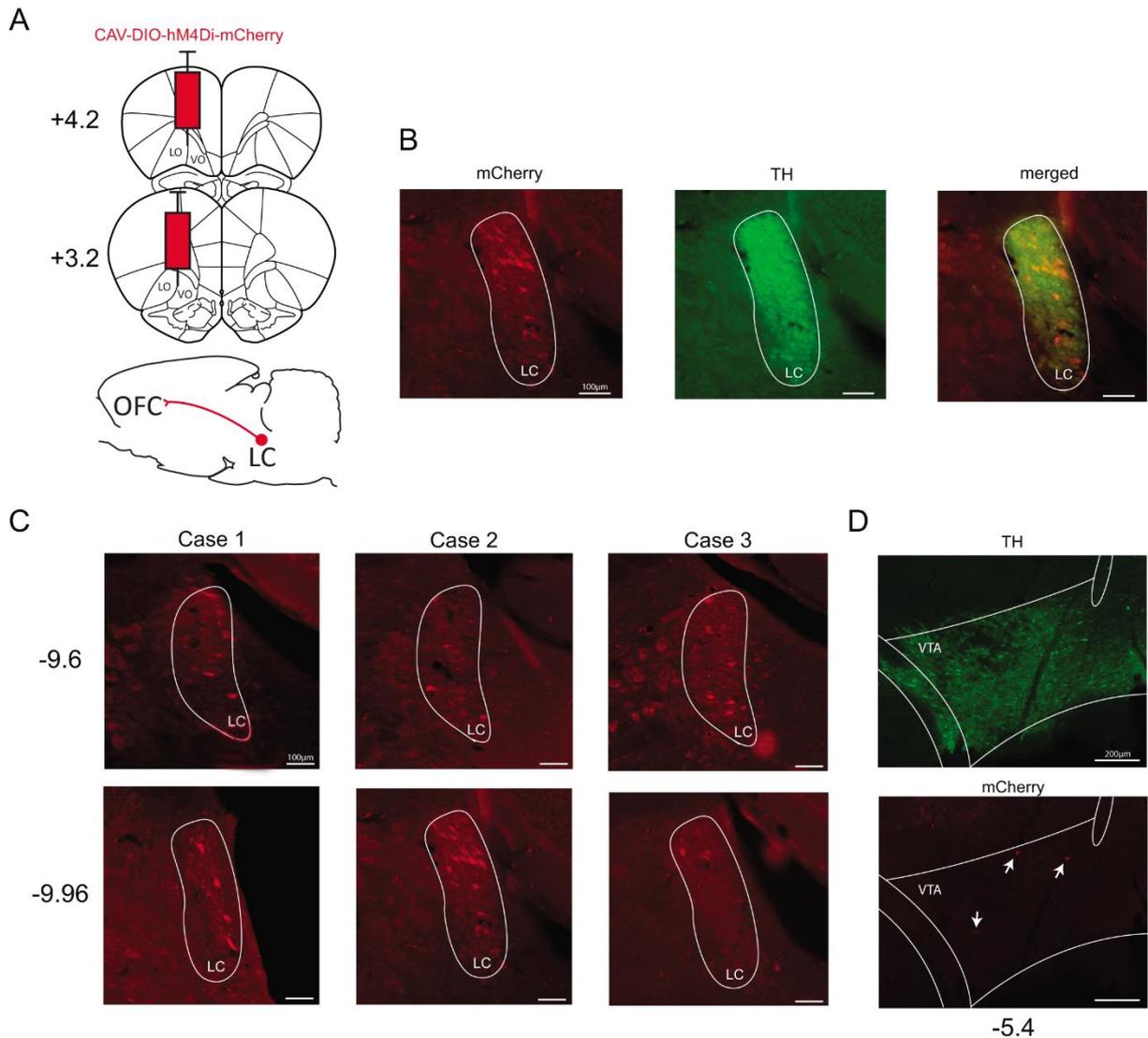


Figure 2. Use of CAV-hM4Di to target catecholaminergic pathway reaching the OFC. (A) Schematic illustration of viral vector injection into the OFC at two different coordinates taken from Bregma (AP+3.2mm and AP+4.2mm). (B) Example of staining obtained in the LC for mCherry-positive and TH-positive neurons (Case 2, AP -9.96mm). (C) Staining obtained in LC for all pilot cases at two different antero-posterior coordinates taken from Bregma (AP -9.6mm and AP -9.96mm). (D) Example of staining obtained in the VTA for mCherry-positive and TH-positive neurons (AP -5.4mm). OFC : orbitofrontal cortex, VO : ventral OFC, LO : lateral OFC, LC : locus caeruleus; VTA : ventral tegmental area.

CAV-2 mediated hM4Di expression in catecholaminergic pathways

Furthermore, we found no staining in LC after injection of CAV-hM4Di in the OFC of transgene-negative littermates TH-Cre⁻ (one case reported in Figure 3A) or a wild-type animal (Figure 3B). Thus, in absence of Cre-recombinase, no expression of DREADD is observable.

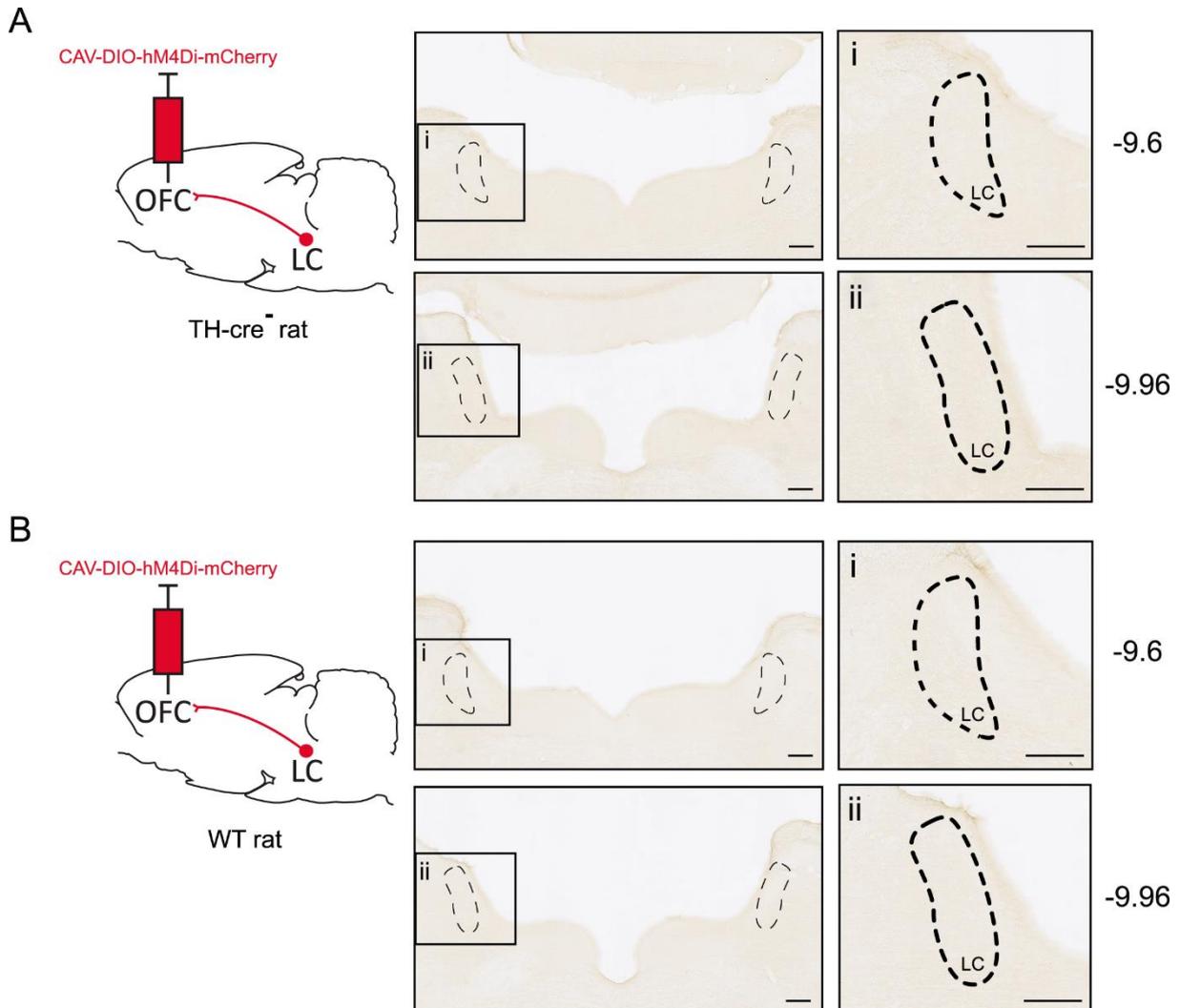


Figure 3. Absence of CAV-hM4Di expression in animals lacking Cre-recombinase. (A) DAB immunostaining in LC after injection of CAV2-DREADD in the OFC of transgene-negative littermate TH-Cre⁻ at two AP coordinates (AP -9.6mm and AP -9.96mm). (B) DAB immunostaining in LC with the same injection in wild-type rat. Scale bars = 200µm.

Discussion (614 words)

Our findings demonstrate that CAV-hM4Di can be used to infect different pathways using a single injection in a transgenic rat line. Indeed, injection of this vector in two different structures, specifically the DLS and the OFC, resulted in a reliable mCherry-reporter staining in catecholaminergic nuclei projecting to these structures.

CAV-2 mediated hM4Di expression in catecholaminergic pathways

Numerous studies have used DREADD technology to study function of dopaminergic pathways using a combination of viral vectors and transgenic rodent lines (Runegaard et al 2019). Our report provides evidence to consider CAV-hM4Di as a new powerful tool to transiently inhibit nigrostriatal dopaminergic pathway when used in combination with TH-transgenic rodent line. Indeed, a single injection of CAV-hM4Di in DLS primarily resulted in a strong staining at the level of the SNc along the rostro-caudal axis. Such staining is not surprising due to the strong connectivity between these two structures as previously described (Fallon & Moore 1978). The neighbouring VTA was not stained, confirming anatomic specificity of the infection.

Recent studies have highlighted the involvement of noradrenergic pathways reaching different prefrontal areas to support distinct cognitive functions (Cope et al 2019, Tervo et al 2014). Therefore, simple methods allowing transient and specific modulation of these pathways are necessary to understand their functional specificity. In this study, we have provided an example of such possibility by targeting the noradrenergic inputs into the OFC. The brainstem nucleus, LC, constitutes the major source of noradrenaline (NA) to the cortex (Loughlin et al 1982) and sends projections to all prefrontal areas (Agster et al 2013, Cerpa et al 2019, Chandler et al 2013). Accordingly, following CAV-hM4Di injection in the OFC, we found staining restricted to the LC. Furthermore, in all cases, labelled cells were mostly found in the medial portion of the LC. This is in agreement with the topographic organization of LC efferent neurons showing that, along the rostro-caudal axis, neurons projecting to the neocortex are primarily located in the medial portion of LC (Loughlin et al 1986b).

In the present study, OFC injections only resulted in weak and rare staining in the VTA. Considering that the rodent OFC dopaminergic innervation is scarce (Descarries et al 1987, Murphy & Deutch 2018), it is difficult to conclude on the efficiency of the vector to infect this pathway. However, because infection of neurons by CAV-2 vectors depends on CAR availability (Bru et al 2010), one possibility is that mesocortical neurons reaching the OFC

CAV-2 mediated hM4Di expression in catecholaminergic pathways

express few CAR molecules. Interestingly, recent studies have used a “CAR boost” strategy to enhance CAV-2 tropism in various pathways (Li et al 2018). Such complementation could be used to promote CAV-hM4Di infection in pathways of interest.

The present report highlights the use of CAV-2 vector harbouring a DREADD cassette with TH-Cre rats. However, it does not give an exhaustive presentation of other possibilities of single intracerebral injections. Indeed, while same study in TH-Cre mice is lacking, it is likely that CAV-hM4Di could be used in mice and in combination with other type of transgenic lines *e.g* Dbh-Cre mice, SERT-Cre mice. However, CAV-hM4Di could still be used in wild type animal with Cre provided by another viral vector (*e.g* AAV-cre vector) that infects neuron at the site of injection.

In control animals, lacking the Cre-recombinase, we found no evidence of recombination and expression of the hM4Di-mCherry indicating specific Cre-dependent expression. On the other hand, it has been argued that some non-specific expression could be observed with the use of floxed AAVs, as stated in this issue by Morceau et al. (2019). The present study suggests that the CAV-2 vector containing a floxed DREADD could be used to overcome this issue.

Conflict of Interest

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Author Contributions

J-C.C, J-R.P and E.C performed research; J-C.C, A.M, E.K and E.C wrote and edited the paper.

Funding

This work was supported by the French National Research Agency (grant number ANR-14-CE13-0014 GOAL to E.C , and CE37-0019 NORAD to E.C. and E.J.K) and by the Fondation pour la Recherche Médicale (FRM grant number ECO20160736024 to J-C.C).

Acknowledgments

The authors thank Gilles Courtand for technical assistance with image acquisition and Dr. Mathieu Wolff for his useful comments and his continuous support. Part of the microscopy was completed at the Bordeaux Imaging Center, a service unit of CNRS-INSERM and Bordeaux University and member of the national infrastructure, France BioImaging.

References

- Agster KL, Mejias-Aponte CA, Clark BD, Waterhouse BD. 2013. Evidence for a regional specificity in the density and distribution of noradrenergic varicosities in rat cortex. *J Comp Neurol.* Jul 01;521:2195-2207.
- Alcaraz F, Fresno V, Marchand AR, Kremer EJ, Coutureau E, Wolff M. 2018. Thalamocortical and corticothalamic pathways differentially contribute to goal-directed behaviors in the rat. *Elife.* Feb 6;7. Epub 2018/02/07.
- Bru T, Salinas S, Kremer EJ. 2010. An update on canine adenovirus type 2 and its vectors. *Viruses.* Sep;2:2134-2153. Epub 2011/10/14.
- Cerpa JC, Marchand AR, Coutureau E. 2019. Distinct regional patterns in noradrenergic innervation of the rat prefrontal cortex. *J Chem Neuroanat.* Mar;96:102-109. Epub 2019/01/11.
- Chandler DJ, Lamperski CS, Waterhouse BD. 2013. Identification and distribution of projections from monoaminergic and cholinergic nuclei to functionally differentiated subregions of prefrontal cortex. *Brain Res.* Jul 19;1522:38-58.
- Cope ZA, Vazey EM, Floresco SB, Aston Jones GS. 2019. DREADD-mediated modulation of locus coeruleus inputs to mPFC improves strategy set-shifting. *Neurobiol Learn Mem.* May;161:1-11. Epub 2019/02/26.

CAV-2 mediated hM4Di expression in catecholaminergic pathways

Descarries L, Lemay B, Doucet G, Berger B. 1987. Regional and laminar density of the dopamine innervation in adult rat cerebral cortex. *Neuroscience*. Jun;21:807-824. Epub 1987/06/01.

Fallon JH, Moore RY. 1978. Catecholamine innervation of the basal forebrain. IV. Topography of the dopamine projection to the basal forebrain and neostriatum. *J Comp Neurol*. Aug 1;180:545-580. Epub 1978/08/01.

Li SJ, Vaughan A, Sturgill JF, Kepecs A. 2018. A Viral Receptor Complementation Strategy to Overcome CAV-2 Tropism for Efficient Retrograde Targeting of Neurons. *Neuron*. Jun 6;98:905-917 e905. Epub 2018/06/08.

Loughlin SE, Foote SL, Fallon JH. 1982. Locus coeruleus projections to cortex: topography, morphology and collateralization. *Brain Res Bull*. Jul-Dec;9:287-294.

Loughlin SE, Foote SL, Grzanna R. 1986. Efferent projections of nucleus locus coeruleus: morphologic subpopulations have different efferent targets. *Neuroscience*. Jun;18:307-319. Epub 1986/06/01.

Murphy MJM, Deutch AY. 2018. Organization of afferents to the orbitofrontal cortex in the rat. *J Comp Neurol*. Jun 15;526:1498-1526. Epub 2018/03/11.

Parkes SL, Ravassard PM, Cerpa JC, Wolff M, Ferreira G, Coutureau E. 2018. Insular and Ventrolateral Orbitofrontal Cortices Differentially Contribute to Goal-Directed Behavior in Rodents. *Cereb Cortex*. Jul 1;28:2313-2325. Epub 2017/05/26.

Paxinos G, Watson C. 2014. *The Rat Brain in Stereotaxic (Seventh edition)*. G Paxinos, Watson C editors: Academic Press.

Roth BL. 2016. DREADDs for Neuroscientists. *Neuron*. Feb 17;89:683-694. Epub 2016/02/20.

Runegaard AH, Fitzpatrick CM, Woldbye DPD, Andreasen JT, Sorensen AT, Gether U. 2019. Modulating Dopamine Signaling and Behavior with Chemogenetics: Concepts, Progress, and Challenges. *Pharmacol Rev*. Apr;71:123-156. Epub 2019/03/01.

Smith KS, Bucci DJ, Luikart BW, Mahler SV. 2016. DREADDS: Use and application in behavioral neuroscience. *Behav Neurosci*. Apr;130:137-155. Epub 2016/02/26.

Tervo DGR, Proskurin M, Manakov M, Kabra M, Vollmer A, Branson K, Karpova AY. 2014. Behavioral variability through stochastic choice and its gating by anterior cingulate cortex. *Cell*. Sep 25;159:21-32. Epub 2014/09/27.

3) Stratégies 3 et 4

Les stratégies 1 et 2 se basent sur le ciblage de la voie LC-OFC par utilisation d'un vecteur rétrograde, qui présente l'inconvénient principal de dépendre de l'expression du récepteur CAR spécifique au CAV-2. De manière à contourner cet inconvénient, une stratégie alternative consiste à infecter la structure source (ici le LC) avec un AAV porteur du DREADD. Le DREADD est alors exprimé au niveau des corps cellulaires mais est également transporté par la machinerie cellulaire le long des axones et est retrouvé au niveau des terminaisons. Contrairement à l'utilisation classique de la méthode DREADD pour laquelle l'agoniste (*ex* : CNO) est injecté de manière systémique, la spécificité spatiale peut être obtenue en infusant, *via* une canule, l'agoniste directement au niveau de la structure cible vers laquelle projette A (Figure 33A) et ainsi inhiber directement la libération synaptique au niveau des terminaisons (Stachniak et al 2014). Nous avons testé la validité d'une telle approche en utilisant d'une part des rats TH-Cre et d'autre part des rats sauvages sur lesquels nous avons réalisé un ensemble d'études interventionnelles.

Rats transgéniques

Méthodes

Des rats TH-Cre ont été opérés comme décrit précédemment. Le vecteur viral AAV a été injecté *via* une micropipette en verre ($\varnothing \sim 30\mu\text{m}$) reliée à un système d'éjection par pression (Picospritzer, General Valve Corporation, Fairfield, NJ). Afin d'infecter les neurones du LC, 0.8 μL du vecteur viral AAV8-hSyn-DIO-hM4Di-mCherry (0.605×10^{13} pv/mL, Viral Vector Production Unit, Universitat Autònoma de Barcelona) a été injecté bilatéralement dans le LC aux coordonnées (mm à partir du Bregma) : AP -9.8, ML ± 1.4 , DV -7.2. Les rats ont été maintenus en vie au minimum 6 semaines suite à la chirurgie pour permettre la migration du DREADD vers les terminaisons (Figure 33A). Les cerveaux ont ensuite subi les mêmes traitements que décrits pour la deuxième stratégie afin de révéler le marquage au niveau du LC. Des sections du PFC ont également réalisés pour évaluer la présence du DREADD au niveau des fibres terminales.

Résultats

Nous avons injecté un AAV floxé dans le LC de rats transgéniques TH-Cre. La TH étant présente dans les neurones noradrénergiques, cette injection doit conduire à l'expression importante du DREADD dans les neurones du LC. Le traitement immunohistochimique nous a en effet permis de révéler une expression importante du DREADD dans une large population neuronale, mais pas l'ensemble, du LC

(Figure 33B). En revanche, le traitement immunohistochimique anti-RFP dans le PFC n'a révélé que très peu de fibres au niveau de l'OFC (Figure 33C) ou dans d'autres structures préfrontales. Bien que cette méthode soit élégante, nos résultats ne permettent pas de l'envisager pour l'étude de notre voie d'intérêt. Des études ont déjà réalisé des micro-injections de CNO au niveau des terminaisons après injection d'un AAV-DREADD dans une structure (Lichtenberg et al 2017, Mahler et al 2014, Malvaez et al 2019, Stachniak et al 2014) mais aucune, à notre connaissance, ne l'a pratiqué avec l'utilisation d'un AAV floxé chez des rats transgéniques TH-Cre. Il est possible que les propriétés d'expression et de migration soit différente dans notre cas.

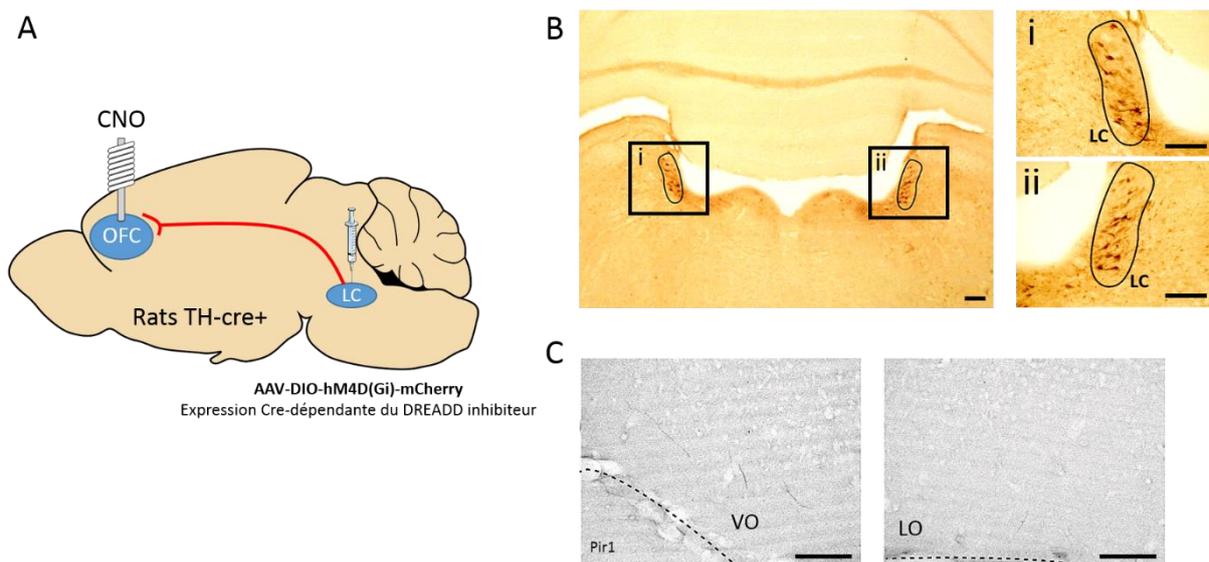


Figure 33. **A.** Représentation schématique de la stratégie employée afin d'inhiber, dans l'OFC, les fibres provenant du LC. **B.** Marquage anti-RFP au niveau du LC. Echelle = 200 μ m. **C.** Marquage anti-RFP au niveau de l'OFC. Echelle = 100 μ m. Pir1 : Cortex piriforme, couche I, VO : cortex orbitofrontal ventral, LO : cortex orbitofrontal latéral.

Rats sauvages

Nous avons appliqué la même méthode chez des rats normaux en utilisant un AAV non floxé, porteur d'un DREADD inhibiteur (Figure 35A). Etant donné la petite taille du LC, nous nous attendions à une zone d'infection du vecteur viral dépassant largement le noyau du LC. Néanmoins, des données de traçage neuronal obtenues au laboratoire indiquent que les régions avoisinantes le LC ne projettent pas vers l'OFC. Avec cette approche, nous avons effectivement observé des fibres au niveau de l'OFC et l'avons employée, bien qu'elle soit moins spécifique, pour répondre à notre question initiale. Les résultats présentés ici sont encore préliminaires mais semblent peu concluants.

Méthodes

Animaux

Pour notre étude nous avons utilisé 31 rats mâles Long-Evans âgés de 2-3 mois et pesant environ 300g (Centre d'Élevage Janvier, France). Les conditions d'hébergement sont décrites dans les précédents articles.

Chirurgie

La procédure de chirurgie est identique aux études précédentes. Pour infecter la région du LC, 0.8 µL du vecteur viral AA8-hSyn-hM4Di-mCherry (4.8×10^{12} pv/mL, Addgene) a été injecté bilatéralement dans le LC aux coordonnées : AP -9.7, ML ± 1.4 , DV -7.2. Suite à la chirurgie, les rats ont eu deux semaines de récupération avant le début de la procédure comportementale.

Après trois jours d'entraînement instrumental, les animaux ont de nouveau été opérés dans les mêmes conditions afin de mettre en place les guide-canules. Les rats ont été anesthésiés et préparés comme indiqué précédemment. Un guide-canule (5mm, 26GA, PlasticOne) était ensuite descendu, dans chaque hémisphère, au niveau de l'OFC aux coordonnées : AP +3.5, ML ± 2.2 , DV -3.1. Les guide-canules étaient maintenus en place par du ciment dentaire (Palavit® G), accroché par quatre petites vis implantées dans le crâne. Des mandrins étaient placés dans les guide-canules afin d'empêcher que ceux-ci ne se bouchent. Suite à cette chirurgie, nous avons isolés les rats dans leur cage afin de limiter les risques de perte des guide-canules.

Solutions

Pour activer le DREADD, nous avons utilisé la Clozapine-N-Oxide (CNO, Enzo Life Sciences), dissout dans une solution d'aCSF contenant 0.5% de dimethyl sulfoxide (DMSO, Sigma-Aldrich) afin d'obtenir une concentration finale de 1nM. La solution véhicule (VEH) est constituée d'une solution d'aCSF contenant 0.5% de DMSO.

Appareil

L'équipement utilisé est le même que celui décrit dans l'article n°2.

Procédure comportementale (Figure 34)

Les paramètres d'entraînement sont les mêmes que ceux utilisés dans l'article n°2 et Parkes *et al.* 2018. Après deux sessions d'entraînement de visite à la mangeoire, les animaux étaient entraînés dans une phase initiale durant laquelle ils devaient apprendre la première association entre chaque levier et sa récompense respective. Contrairement à l'article n°2, les rats n'étaient entraînés que durant dix sessions journalières et non douze. De plus, suite à la première session de RR5 (3^{ème} jour d'entraînement instrumental), les rats étaient remis en régime *ad libitum* et opérés le jour suivant afin de mettre en place les guide-canules. La raison de ce choix est à la fois d'éviter que les guide-canules ne soient mis en place qu'au moment de l'inversion, et également de réduire la période durant laquelle les animaux avaient les guide-canules pour minimiser le risque de perte. Suite à la chirurgie, les rats ont récupéré pendant cinq jours puis ont été remis en privation alimentaire. L'entraînement instrumental se poursuivait alors pendant sept jours. Suite à celui-ci, un test de dévaluation par satiété était réalisé comme décrit précédemment.

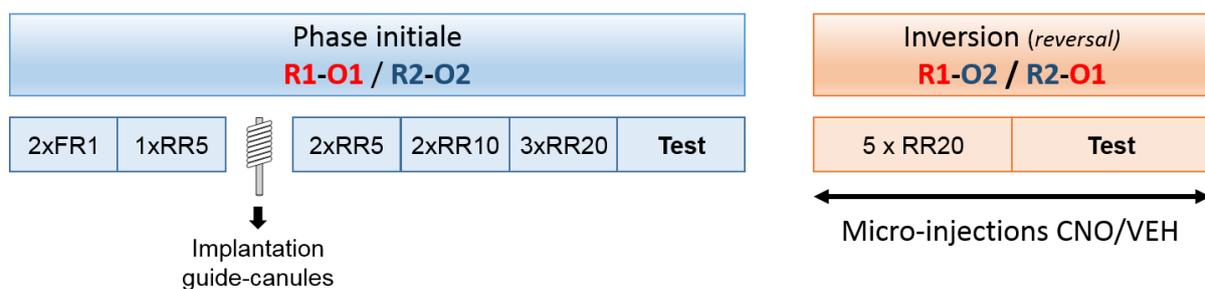


Figure 34. Procédure expérimentale.

Suite à la dévaluation et après une session de réentraînement avec les associations initiales, la phase d'inversion débutait.

Un jour avant le début de la phase d'inversion et des micro-injections, les animaux ont été emmenés dans la salle de micro-injection afin de les habituer à être maintenus enroulés dans une serviette. Pendant cette session de familiarisation, les mandrins ont été retirés, les guide-canules nettoyés et une micro-injection de 0.3 µL de NaCl 0.9% réalisée. Les micro-injections ont été faites bilatéralement, à une vitesse de 300nl/min, *via* deux canules d'injection (33 GA, 2mm de projection en sortie du guide-canule) connectées par des cathéters à deux seringues Hamilton (10 µL) placées sur une pompe à infusion (Pump 11 Elite, Harvard Apparatus). Lorsque la phase d'inversion a débuté, selon leur groupe, les animaux ont reçu, bilatéralement, 0.3 µL de CNO ou 0.3 µL de VEH dans l'OFC. A la fin de l'infusion, les aiguilles d'injection étaient laissées en place pendant deux minutes afin de permettre la diffusion de la solution. Les animaux étaient ensuite transportés vers la pièce des cages opérantes où ils étaient ensuite

placés après un délai de cinq minutes. Les micro-injections ont été réalisées par un expérimentateur et le transport des rats par un deuxième expérimentateur.

Lors des sessions d'entraînement en inversion les animaux devaient apprendre les associations instrumentales inverses aux précédentes. Excepté cette inversion, les sessions sont identiques à celles de l'entraînement initial.

Suite aux cinq jours d'inversion, deux tests de dévaluation ont été réalisés de la même façon que précédemment expliqué. Les micro-injections ont été réalisées après la satiété. La moitié des animaux de chaque groupe ont reçu du CNO, l'autre moitié de la solution VEH. Les animaux ont ensuite été soumis à un test instrumental en condition d'extinction puis à un test de consommation.

Le deuxième test a été réalisé deux jours après le premier. Pour ce test, les rats ayant reçu une micro-injection de CNO ont reçu une micro-injection de solution VEH et vice versa. Ainsi, le traitement reçu au cours du test est un facteur intra-sujet, tandis que le traitement durant l'entraînement est un facteur inter-sujet.

Résultats préliminaires

Immunohistochimie

La Figure 35B illustre un cas représentatif d'injection d'AAV non floxé dans le LC. Comme le montre cette figure, une diffusion importante dans les régions voisines du LC le long de l'axe rostro-caudal du LC est observable. L'inspection du marquage au sein du LC révèle un marquage de corps cellulaires mais qui diffère du type de marquage obtenu par la stratégie utilisant des rats transgéniques. On peut notamment observer au niveau plus postérieur (-9.96), le marquage au sein du LC qui contraste avec celui autour du LC. La structure semble être plus claire avec quelques corps cellulaires marqués en son sein. Des fibres, exprimant le DREADD, sont observées au niveau de l'OFC (Figure 35C). Nous avons également pu vérifier que la canule se trouvait bien au niveau de l'OFC entre les régions ventrales et latérales (Figure 35D).

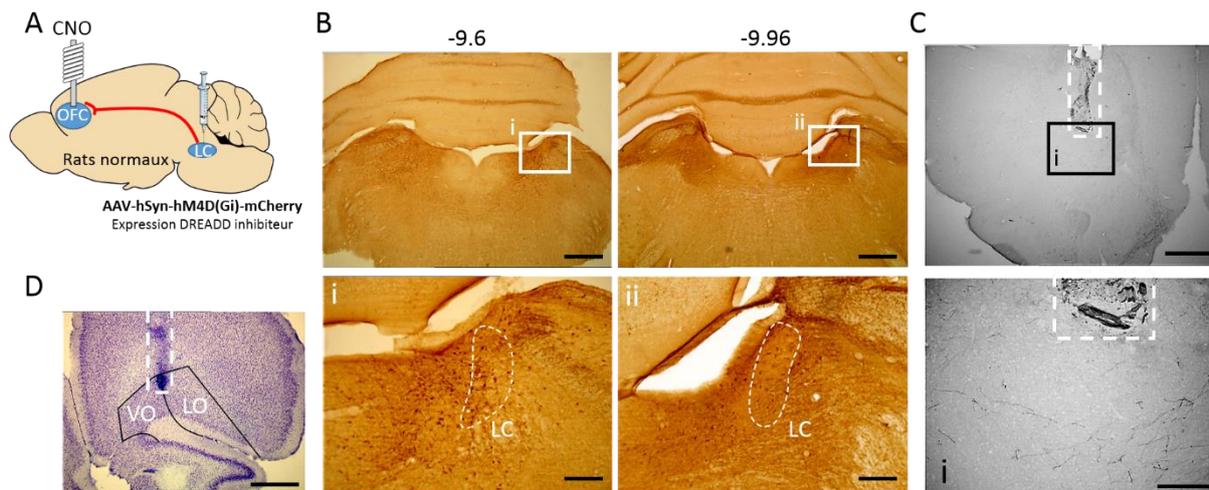


Figure 35. A. Représentation schématique de la stratégie employée chez des rats normaux pour inhiber spécifiquement les afférences provenant du LC vers l'OFC. B. Expression du DREADD dans la région proche du LC à deux niveaux antéro-postérieurs (mm à partir du Bregma), échelle = 1mm et 200 μ m (i et ii). C. Observation de fibres exprimant le DREADD au niveau de l'OFC, échelle = 1mm et 100 μ m (i). D. Marquage à la thionine permettant de mieux visualiser le tracé de la canule (pointillés blancs) au niveau de l'OFC, échelle = 1mm.

Résultats comportementaux

La Figure 36A montre la progression de la performance instrumentale au cours de l'entraînement initial. L'ANOVA indique que la performance progresse au cours des sessions ($F_{(1,29)} = 131.2$; $p < 0.0001$) et ne diffère pas entre les deux futurs groupes ($F_{(1,29)} = 0.6$; ns). Ces deux facteurs n'interagissent pas entre eux ($F_{(1,29)} = 0.3$; ns).

Les résultats du test de dévaluation réalisé en condition d'extinction sont montrés dans la Figure 36B. Les animaux des deux futurs groupes ont biaisé leur réponse vers le levier associé à la récompense non dévaluée indiquant qu'ils ont correctement acquis les associations instrumentales initiales. L'ANOVA confirme l'effet de la condition (Dev vs. Ndev) sur la réponse ($F_{(1,29)} = 10.5$; $p = 0.003$). Cet effet n'interagit pas avec le facteur groupe ($F_{(1,29)} = 1.4$; ns). Les résultats du test de consommation confirment que la satiété est effective (Figure 36C). Les animaux des deux futurs groupes ont, en effet, consommé plus de la nourriture non dévaluée que de la nourriture dévaluée ($F_{(1,29)} = 32.5$; $p < 0.0001$). Cet effet de la dévaluation n'interagit pas non plus avec le groupe ($F_{(1,29)} = 0.016$; ns).

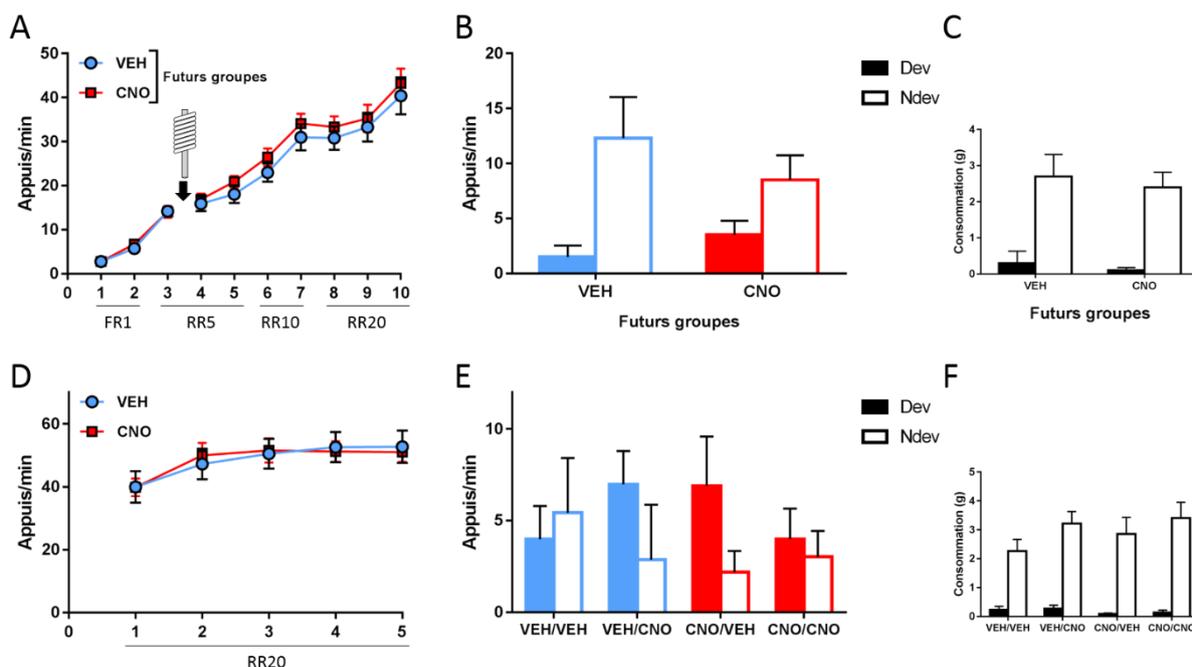


Figure 36. A. Performance instrumentale au cours des sessions d'entraînement initial, les solutions ne sont pas encore injectées à ce stade. L'entraînement est interrompu par la mise en place des guide-canules après le 3^{ème} jour. B. Résultats du test de dévaluation de la phase initiale. C. Résultats du test de consommation de la phase initiale. D. Performance lors de la phase d'inversion. Les solutions sont micro-injectées 5 minutes avant chaque session d'entraînement. E. Résultats des tests de dévaluation de la phase d'inversion. F. Résultats des tests de consommation de la phase d'inversion.

Ces résultats montrent que les animaux des deux groupes ont été capables d'acquiescer les associations instrumentales initiales.

La Figure 36D illustre la performance des groupes VEH et CNO lors de la phase d'inversion. L'observation des résultats suggère que la performance augmente encore légèrement. L'analyse ANOVA confirme cet effet session ($F_{(1,29)} = 22.7$; ns) mais sans révéler d'effet du groupe ($F_{(1,29)} = 0.0003$; ns), ni d'interaction entre ces deux facteurs ($F_{(1,29)} = 0.7$; ns).

Les résultats des tests de dévaluation sont montrés dans la Figure 36E. Ceux-ci ne sont pas concluants. L'observation des résultats suggère bien un léger biais de la réponse du groupe contrôle (VEH/VEH) vers le levier associé à la récompense non dévaluée. Cependant, cette observation n'est pas confirmée par les tests statistiques, ce qui ne nous permet pas d'exploiter nos résultats. Les résultats du test de consommation indiquent, eux, encore l'efficacité de la procédure de dévaluation par satiété. L'ANOVA indique un effet de la dévaluation ($F_{(1,29)} = 104.6$; $p < 0.0001$). Cet effet n'interagit ni avec le groupe ($F_{(1,29)} = 0.9$; ns) ni avec le traitement lors du test ($F_{(1,29)} = 1.7$; ns). Il n'y a pas non plus d'interaction entre ces trois facteurs ($F_{(1,29)} = 0.161$; ns).

Conclusion

Cette étude a été réalisée dans l'objectif de manipuler temporellement la voie entre le LC et l'OFC. Elle s'est basée sur la stratégie employée dans plusieurs études afin d'agir localement au niveau des terminaisons synaptiques afin de réduire la libération synaptique. Dans notre étude, nous avons injecté un AAV-DREADD non floxé au niveau du LC et observé une expression non négligeable du DREADD au niveau des fibres dans l'OFC. L'étendue de l'injection s'étend au-delà du noyau du LC, néanmoins, nos observations au laboratoire n'indiquent pas de projections vers l'OFC provenant de régions voisines du LC. Il est donc probable que les fibres observées au niveau de l'OFC proviennent du LC. Notons toutefois la proximité du 4^{ème} ventricule qui peut être problématique concernant la diffusion du vecteur viral à des régions plus lointaines. Ce type d'approche nécessitera probablement un ajustement du volume de virus injecté afin d'en limiter la diffusion.

La performance du groupe contrôle est surprenante étant donné que nous avons, au sein de l'équipe, validé à plusieurs reprises le protocole utilisé (Article n°2, Fresno et al 2019, Parkes et al 2018). Cinq jours sont normalement suffisants pour observer une expression comportementale des animaux contrôles en accord avec les nouvelles contingences. Il reste à déterminer si les micro-injections répétées peuvent être à l'origine de ce problème.

Conclusion générale

La dernière partie de ces travaux de thèse avait pour objectif de déterminer le moment durant lequel l'innervation noradrénergique intervient dans l'OFC. Pour cela, diverses méthodes utilisant une approche pharmacogénétique ont été envisagées afin de permettre une manipulation de ces afférences avec une résolution temporelle suffisante. Néanmoins, nous nous sommes confrontés à certaines limites de ces méthodes. La stratégie 1 combinant deux vecteurs viraux permet de marquer un petit nombre de neurones du LC projetant vers l'OFC. Se basant sur la combinaison de deux injections, cette stratégie génère également un déchet important. La stratégie 2 utilisant le CAV-hM4Di est fonctionnelle, néanmoins la spécificité pourrait être améliorée par l'utilisation d'un promoteur spécifique des neurones noradrénergiques. Le groupe de E. Kremer a développé un tel vecteur viral basé sur le même principe (CAV rétrograde) à la différence que le promoteur intégré dans ce vecteur est un promoteur spécifique des neurones noradrénergiques (PRS, Hirschberg et al 2017). La présence de ce promoteur rend possible son utilisation chez des rats normaux (en version non floxé) tout en gardant la spécificité du type neuronal noradrénergique. Cette spécificité et la possibilité d'administrer l'agoniste du DREADD en systémique rendrait cette méthode idéale et est à envisager pour de futures études. La stratégie combinant l'utilisation des rats TH-Cre et de l'AAV-DREADD floxé est séduisante et aurait permis d'obtenir une spécificité temporelle, spatiale et cellulaire. Néanmoins l'absence de marquage au niveau de l'OFC pose question sur le transport du vecteur et sur la pertinence de cette stratégie. Enfin, la stratégie employée pour notre étude comportementale permet d'agir sur des fibres exprimant le DREADD au niveau de l'OFC. Malgré le manque de spécificité du type cellulaire, cette stratégie aurait pu fournir des éléments de réponse intéressants. La mauvaise performance des animaux contrôles empêche toutefois l'exploitation de ces résultats.

Discussion générale

Discussion générale

Les processus élémentaires à la base de la prise de décision peuvent être étudiés dans le cadre du corpus théorique et méthodologique des apprentissages associatifs (de Wit & Dickinson 2009). Le domaine a révélé l'implication d'un ensemble de structures corticales et sous-corticales dans différents processus nécessaires à l'action dirigée (Balleine 2019, Balleine & O'Doherty 2010). Si l'on considère l'étage cortical, il apparaît que l'action dirigée repose sur une remarquable hétérogénéité fonctionnelle entre ses différentes sous-régions (Coutureau & Parkes 2018). Parmi ces régions, l'OFC semble jouer un rôle subtil dans la flexibilité de la représentation de l'animal lui permettant d'adapter son comportement à des changements dans son environnement. Les circuits neuronaux impliqués dans cette flexibilité et interagissant avec l'OFC reste à l'heure actuelle peu connus. Il est désormais bien établi que le système LC/NA joue un rôle important dans la modulation de fonctions préfrontales et permet notamment une flexibilité comportementale. Ce système apparaît donc comme un candidat idéal pour interagir avec l'OFC (Sadacca et al 2016). C'est dans ce cadre que se sont inscrits ces travaux de thèse qui ont eu pour objectif d'étudier l'implication de l'innervation noradrénergique au sein de l'OFC dans la flexibilité de l'action dirigée.

Récapitulatif des travaux de thèse

En premier lieu, nous avons réalisé un travail descriptif de l'organisation des afférences noradrénergiques au sein de différentes sous-régions de l'OFC et du mPFC. Cette étude a confirmé l'importance de l'innervation noradrénergique au sein du PFC, celle-ci couvrant toutes les régions préfrontales de manière relativement homogène. Néanmoins, une hétérogénéité de l'innervation noradrénergique est observable le long de l'axe antéro-postérieur de certaines régions préfrontales. Cette organisation atypique peut être probablement expliquée par la trajectoire des fibres provenant du LC.

Dans la partie centrale de ces travaux de thèse, nous avons employé des méthodes de déplétion afin de vérifier que les afférences noradrénergiques au sein de l'OFC jouent un rôle dans l'action dirigée et la flexibilité de l'apprentissage. Cette étude renforce les résultats obtenus précédemment par inactivation ou lésion de l'OFC dans un protocole d'inversion de l'identité de la récompense et les étend en

suggérant un rôle spécifique de la NA lors de cette phase. De plus, nos données suggèrent que la dopamine dans l'OFC n'est pas impliquée.

Bien qu'elles apportent des éléments intéressants, les méthodes employées ont leurs limites puisqu'elles ne permettent pas une spécificité temporelle et spatiale suffisante. Pour cela, la méthode pharmacogénétique DREADD largement utilisée chez le rongeur et notamment dans l'équipe (Alcaraz et al 2018, Parkes et al 2018), nous est apparue comme un outil approprié pour affiner nos résultats et diverses stratégies ont été envisagées.

Considérations anatomiques

Nous avons pris le parti d'utiliser les dernières nomenclatures issues de la 7^{ème} édition de l'atlas stéréotaxique (Paxinos & Watson 2014). Ce dernier atlas, de même que celui pour la Souris (Paxinos & Franklin 2012), a été réalisé en collaboration avec B. Vogt dont les travaux ont indiqué une homologie anatomique entre le mPFC du primate et du rongeur. L'homologie anatomique indiquée par l'organisation cytoarchitecturale et la connectivité (Heilbronner et al 2016, Vogt & Paxinos 2014) n'est pas automatiquement synonyme d'homologie fonctionnelle (Alexander et al 2019, Wallis et al 2017). Néanmoins, l'harmonisation de la terminologie et de la délimitation de ces aires préfrontales pourrait faciliter la communication et faciliter les études comparatives inter-espèces. (Laubach et al 2018). Notons que les sous-régions préfrontales indiquées dans l'atlas stéréotaxique des rongeurs ne correspondent pas toutes aux délimitations, ni à la terminologie, utilisées par Uylings et collaborateurs, se basant sur divers critères moléculaires (Van De Werd et al 2010, Van De Werd & Uylings 2008). Cette dernière terminologie est plus en accord avec celle retrouvée dans un autre atlas du Rat, celui de Swanson (2004) qui a lui-même été repris pour l'établissement de l'atlas *Allen Brain* chez la Souris. Parmi cette diversité, l'atlas stéréotaxique apparaît toutefois comme un moyen simple et efficace de comparaison entre études se basant sur les coordonnées stéréotaxiques.

Notre étude anatomique de l'organisation des afférences noradrénergiques au sein des différentes sous-régions de l'OFC et du mPFC s'accorde avec la littérature existante démontrant une abondante innervation noradrénergique dans le cortex et plus particulièrement dans les régions du PFC (Agster et al 2013, Chandler et al 2013). Bien que ne s'intéressant pas directement aux différentes sous-régions préfrontales, Morrison et al (1981) ont démontré l'existence de voies de progression distinctes à travers le cortex. Leurs données indiquent des points d'entrées des neurones ventralement au niveau du subiculum et médialement en avant du genou du corps calleux. De manière intéressante, dans notre étude, la localisation des structures concernées par une variation de la densité d'innervation le long de leur axe rostro-caudal semble correspondre au chemin emprunté par les neurones du LC. Les données

récentes indiquent que les neurones du LC projettent préférentiellement vers une structure préfrontale sans diverger vers d'autres structures. Néanmoins, dans toutes ces études, une petite proportion de neurones divergents est observable. Dès lors, malgré que nous mentionnions uniquement la présence de fibres de passage, il est possible qu'une partie soit en réalité des fibres de neurones divergents à l'origine du grand nombre de varicosités observées à ce niveau. Cependant, notre méthode ne permet pas de préciser la nature des fibres sur lesquelles des varicosités sont détectées. L'existence probable d'une minorité de neurones divergents et surtout d'un grand nombre de fibres de passage au niveau du VO pose problème si l'on a comme objectif la déplétion sélective des fibres innervant l'OFC comme nous l'avons vu dans l'article n°2.

Considérations comportementales

Le cœur de cette thèse s'intègre dans le cadre expérimental de l'apprentissage instrumental cherchant à étudier les processus neurobiologiques à la base du contrôle des actions (Balleine & Dickinson 1998b, de Wit & Dickinson 2009, Dickinson 1994). Comme nous l'avons vu, le domaine a permis d'appréhender la diversité des processus à l'origine de l'action. Les études systématiques chez le rongeur ont renforcé l'idée d'une dichotomie entre les systèmes contrôlant les actions. En effet, il existe d'une part les habitudes et de l'autre l'action dirigée. Cette dernière est sensible à la relation causale entre une action et sa conséquence (O). La connaissance des relations A-O doit être flexible puisque dans un environnement fluctuant, cette relation peut être modifiée de manière inattendue. Les protocoles d'inversion permettent de modéliser une telle situation au cours de laquelle l'animal doit mettre à jour ses connaissances afin d'ajuster son comportement. Nos données indiquent que la déplétion de NA dans l'OFC perturbe cette flexibilité.

Il est important de noter que le protocole d'inversion que nous avons employé, basé sur l'inversion de l'identité de la récompense, n'implique pas un changement de valeur des choix disponibles (p. ex. un levier correct et un levier incorrect) comme on peut le retrouver dans une tâche d'inversion classique (Izquierdo 2017). Notre tâche diffère en cela que, durant l'entraînement, les options sont toujours correctes, les récompenses obtenues ayant la même valeur pour l'animal. Ici, l'apprentissage des nouvelles associations A-O ne peut se baser que sur la mise à jour de la représentation de la conséquence attendue pour chaque action.

Cortex orbitofrontal

Nos résultats indiquent que l'OFC joue un rôle dans ce processus. Divers auteurs ont auparavant associé la perturbation de l'OFC à une rigidité comportementale dans diverses tâches d'inversion stimulus-récompenses (Boulougouris et al 2007, Burke et al 2009, Chudasama & Robbins 2003, Izquierdo et al 2013, Meyer & Bucci 2016). De plus, une partie des neurones au sein de l'OFC (latéral) répondent différemment au cours d'une inversion (Schoenbaum et al 2003). L'apprentissage dans ces inversions « classiques » peut se faire *via* un signal de prédiction d'erreur de valeur, signalant par exemple l'absence d'une récompense attendue après l'appui sur un levier. Néanmoins, de tels signaux ne peuvent apparaître dans la tâche d'inversion, basée sur l'identité, que nous avons employée. Bradfield et al (2013) ont proposé que l'apprentissage dans ce type d'inversion se fasse sur la base d'un modèle de l'environnement (*model-based*). Ce modèle se base sur des transitions connues entre états correspondant aux différents événements de la tâche. Ainsi, lors de la phase initiale, l'animal va, par exemple, intégrer la transition entre un état « appui sur le levier droit » à un état « obtention d'une pastille de sucre ». En revanche, lors de l'inversion de la contingence, l'animal passe, de manière inattendue, d'un état « appui sur le levier droit » à un état « obtention d'une pastille de grain ». Cette transition inattendue va créer un signal d'erreur d'état et non de valeur (Glascher et al 2010), et permettre une mise à jour de la connaissance. Ce processus est possiblement réalisé au niveau du pDMS notamment *via* l'activité des interneurones cholinergiques (CINs) (Bradfield & Balleine 2017, Schoenbaum et al 2013). De manière tout à fait intéressante, Stalnaker et al (2016) ont montré que dans une tâche de discrimination d'odeurs, l'activité neuronale des CINs en réponse aux événements de la tâche est perturbée chez des animaux lésés au niveau de l'OFC. De plus, les travaux de C. Gremel ont révélé un circuit fonctionnel impliquant l'OFC et le striatum dorsal dans le contrôle de l'action dans certaines conditions (Gremel et al 2016, Gremel & Costa 2013a). Ce rôle assigné à l'OFC est en accord avec de nombreuses données qui montrent que l'OFC encode diverses informations nécessaires à la réalisation d'une tâche. L'OFC représente la valeur de la conséquence attendue (McDannald et al 2005, Padoa-Schioppa & Assad 2006, Rhodes & Murray 2013, Rudebeck et al 2013, Schoenbaum et al 2011, Stalnaker et al 2014), son identité (Balleine et al 2011, Schoenbaum et al 2011) ainsi que celle de la conséquence contrefactuelle (Steiner & Redish 2012), la ressemblance entre différentes conséquences (Guillem & Ahmed 2019), des informations spatiales (Feierstein et al 2006, Young & Shapiro 2011) et temporelles (Roesch et al 2006). La multitude d'informations intégrées a conduit certains auteurs à suggérer que l'OFC forme une représentation générale de la tâche (Schuck et al 2016, Wilson et al 2014) basée notamment sur des éléments inférés (McDannald et al 2011, Saez et al 2015, Stalnaker et al 2014). Cette représentation de la tâche permettrait à l'animal de détecter des changements inattendus

nécessitant une adaptation comportementale et une modification de sa représentation. Nos données montrant que l'OFC est impliqué lorsque les associations sont changées de manière inattendue s'accordent avec cette idée, bien qu'elles ne permettent pas de déterminer en détail le mécanisme par lequel l'OFC opère. Néanmoins, au sein de l'OFC, différentes contingences S-O sont représentées par différentes populations neuronales, contrairement par exemple à la BLA où les mêmes neurones vont adapter leur activité aux nouvelles contingences (Schoenbaum et al 2003). Ainsi, il est possible que l'acquisition des nouvelles contingences dans notre inversion soit sous-tendue par l'apparition d'une nouvelle population neuronale. L'identification électrophysiologique (Guillem & Ahmed 2018, Guillem & Ahmed 2019) ou par imagerie calcique (Jennings et al 2019) de populations neuronales dans l'OFC serait déterminante à cet égard. L'inactivation spécifique de telles populations neuronales (Cruz et al 2013, Whitaker et al 2017) devrait ainsi perturber l'adaptation de l'action dirigée. Nos données suggèrent aussi que cette réorganisation dans l'OFC est également impliquée au moment du test pour permettre éventuellement une levée d'ambiguïté entre des représentations concurrentes.

Bien que nombre de données aient révélé un corrélât neuronal au sein de l'OFC avec des stimuli explicites dans l'environnement, certaines études montrent une réponse neuronale en lien avec la réponse comportementale de l'animal (Furuyashiki et al 2008, Young & Shapiro 2011). De plus, dans un cadre instrumental, les neurones de l'OFC sont sensibles à une action associée à une récompense et à la valeur de celle-ci (Simon et al 2015). Parallèlement, nos résultats, ainsi que d'autres (Gremel et al 2016, Gremel & Costa 2013a), indiquent que l'implication de l'OFC dépasse le cloisonnement Pavlovien/instrumental. Celui-ci pourrait ainsi être impliqué dans une adaptation comportementale globale.

Noradrénaline

La NA module les fonctions préfrontales (Robbins & Arnsten 2009) et il a été proposé que son action sur les circuits préfrontaux serve à la flexibilité comportementale (Sadacca et al 2016, Sara & Bouret 2012). Plusieurs travaux ont démontré une flexibilité de l'activité des neurones du LC qui répondent en fonction de changements de contingences S-O (Aston-Jones et al 1997, Bouret & Sara 2004). La NA semble donc un candidat idéal pour transmettre l'information d'un changement à l'OFC. En effet, nos résultats indiquent un rôle spécifique de la NA dans l'OFC lors de la phase d'inversion. D'après Sadacca et al (2016), l'absence d'un signal noradrénergique dans l'OFC pourrait empêcher de compartimenter un ancien et un nouvel apprentissage. Néanmoins, les auteurs proposent que ce soit une augmentation de l'activité tonique, définie comme promouvant l'exploration d'alternatives (Aston-Jones & Cohen 2005),

qui permette d'initier ce processus. La configuration de notre tâche ne semble pas appropriée à l'apparition d'une activité tonique sous-jacente à un comportement exploratoire. En effet, la théorie propose que ce mode survienne lorsque l'utilité du comportement de l'animal décroît. Dans notre tâche, lorsque les animaux sont soumis à l'inversion de l'identité, l'utilité des actions n'est jamais réduite. Ces actions permettent toujours d'obtenir une récompense de même valeur, seule son identité est modifiée. Il est en revanche possible que la surprise provoquée par un changement d'identité de la récompense soit source d'une réponse phasique du système LC/NA mesurable par électrophysiologie (Bouret & Sara 2004) et qu'il serait nécessaire de corrélérer à la libération de NA au niveau de l'OFC par des méthodes à haute résolution temporelle (Feng et al 2019). Bouret & Sara (2005) ont proposé que cette réponse phasique permette une modification de réseaux neuronaux cruciale pour la flexibilité comportementale. Par ailleurs, nous avons mentionné que la tâche d'inversion pouvait conduire à des transitions d'états inattendus. À cet égard, il est intéressant de noter que Dayan & Yu (2006) proposent que l'activité phasique noradrénergique signale l'incertitude générée par des événements inattendus au cours de la tâche en agissant. Ainsi, la réception inattendue d'une pastille de grain alors que l'animal attendait une pastille de sucre, pourrait générer une réponse phasique du système LC/NA conduisant à une modification de réseaux neuronaux, notamment au sein de l'OFC (Sadacca et al 2016). Là encore cette hypothèse nécessite d'éprouver la dynamique de populations neuronale dans l'OFC et de déterminer l'influence de l'activité noradrénergique sur celle-ci.

Hétérogénéité au sein du cortex préfrontal

Cortex orbitofrontal latéral et médian

Nos travaux ont principalement ciblé les régions ventrales et latérales de l'OFC. D'autres ont ciblé la région médiane (MO) et ont démontré l'implication de celle-ci dans différentes tâches instrumentales. A l'instar du vOFC, le MO ne semble impliqué que dans certaines conditions. En effet, la perturbation de cette structure n'altère la réponse de l'animal que dans des situations où la conséquence n'est pas observable et par conséquent pour lesquelles une représentation de la conséquence est nécessaire. Par exemple, l'inhibition pharmacogénétique du MO lors d'un test de dévaluation rend la réponse insensible à la dévaluation. Sa lésion dans une tâche de Transfert Pavlovien-Instrumental (PIT) altère également la performance de l'animal lors du test de transfert. À l'inverse, la lésion du MO dans une tâche de dégradation instrumentale, au cours de laquelle la récompense est présente, n'a pas d'effet (Bradfield et al 2015). Ces effets semblent dépendre de la partie antérieure du MO et non de sa partie postérieure (Bradfield et al 2018, Munster & Hauber 2018). D'autres études montrent un effet de la lésion ou

l'inactivation du MO dans des tâches probabilistes. La lésion altère la capacité de discrimination entre des leviers à différent probabilité de récompense (Dalton et al 2016, Stopper et al 2014). L'ensemble de ces données suggère que le MO permet une représentation de la conséquence des actions lorsque celle-ci n'est pas observable et incertaine afin de guider le comportement, par exemple lors du test après dévaluation. Par ailleurs, l'activité d'assemblées neuronales au sein du MO reflète l'acquisition d'une information (association S-O) qui est stable dans le temps et pourrait ainsi permettre le rappel de cette information (Namboodiri et al 2019). D'autres études seront nécessaires afin de déterminer l'agencement des contributions respectives du LO et du MO pour le contrôle de l'action (Bradfield & Hart 2019).

De manière tout à fait intéressante, plusieurs données indiquent qu'il existe également une hétérogénéité fonctionnelle entre l'OFC médian (mOFC) et les parties plus latérales de l'OFC (lOFC) chez le Singe (Bouret & Richmond 2010, Rudebeck & Murray 2011, Walton et al 2010, Walton et al 2011). Par exemple, sur la base de résultats obtenus dans une tâche de bandit à trois bras (*three-arm bandit task*) par des lésions de ces régions, Walton et al (2011) ont assigné un rôle au lOFC dans l'attribution du crédit (*credit assignment*) par lequel il permet d'assigner une conséquence au choix qui en est à l'origine (mais voir Rudebeck et al 2017). Le mOFC serait davantage impliqué dans la comparaison des valeurs pour réaliser un choix. Des données récentes montrent une conservation des circuits orbito-striataux chez ces espèces (Heilbronner et al 2016), cependant, une équivalence stricte du point de vue de certaines fonctions n'est peut-être pas si évidente (Rat: Gardner et al 2018, Gardner et al 2017, Singe: Padoa-Schioppa & Assad 2006). Néanmoins, l'hétérogénéité fonctionnelle entre les différentes sous-régions semble être une caractéristique commune entre les espèces.

La description de l'hétérogénéité fonctionnelle chez le Rat selon un gradient médio-latéral considère principalement le MO et le LO. Le ciblage par des méthodes lésionnelles ou virales de ces deux régions couvre souvent de manière concomitante le VO (Hamilton & Brigman 2015, Parkes et al 2018). Le VO pourrait être à l'interface des réseaux latéraux et médians de l'OFC (Heilbronner et al 2016, Hoover & Vertes 2011, Schilman et al 2008), néanmoins des études plus précises sont nécessaires.

Cortex orbitofrontal et Cortex préfrontal dorso-médian

Nous l'avons vu, le dmPFC joue un rôle crucial pour l'action dirigée. Il apparaît que celui-ci est nécessaire pour l'encodage d'associations instrumentales. En revanche, son rôle semble se restreindre à l'encodage et non au stockage sur le long-terme de ces associations. Cette implication à court-terme a été comparée aux éléments décrivant le rôle du dmPFC dans la mémoire de travail (Balleine 2019, Tsutsui et al 2016). La NA a elle-même été impliquée dans la modulation de la mémoire de travail au

sein du PFC (Robbins & Arnsten 2009). Néanmoins, nos résultats indiquent une absence d'effet de la déplétion noradrénergique au sein du dmPFC lors de l'encodage initial d'associations instrumentales. Ces résultats suggèrent que les processus mis en jeu sont potentiellement différents.

Indiquant également une dissociation fonctionnelle avec l'OFC, le dmPFC est largement décrit comme permettant d'ajuster le comportement de l'animal en modifiant sa stratégie de réponse (Floresco et al 2008, Granon & Changeux 2012) ou la dimension des stimuli considérés (Birrell & Brown, 2000). De plus, le dmPFC permet l'utilisation d'indices contextuels afin de guider le comportement (Marquis et al 2007, Sharpe & Killcross 2014). L'inactivation du dmPFC altère notamment la capacité de l'animal à assigner différentes associations S-O au contexte dans lequel il évolue (Sharpe & Killcross 2014). L'ensemble contraste avec le rôle de l'OFC qui est impliqué dans les inversions S-O (non signalées par le contexte) ou la transition au sein d'une même dimension (Chase et al 2012). De manière intéressante, les données montrent que le rôle du dmPFC dans la transition extra-dimensionnelle et celui de l'OFC dans les inversions au sein d'une même dimension sont soumis à l'action de la NA (Cope et al 2019, McGaughy et al 2008, Mokler et al 2017). La NA module donc ces deux aspects nécessaires à l'adaptation comportementale (Sharpe et al 2019).

Outre son rôle dans l'encodage des associations instrumentales, le dmPFC permet également de détecter des changements de contingences (Balleine & Dickinson 1998b, Coutureau et al 2012). Cette fonction dépend de l'action dopaminergique dans le dmPFC (Naneix et al 2009, Naneix et al 2013). Des études supplémentaires seront nécessaires pour déterminer le rôle de l'activité noradrénergique. Il n'est pas exclu que ces deux acteurs agissent manière coordonnée. Une étude anatomique a montré une co-localisation de récepteurs dopaminergiques et noradrénergiques au niveau des dendrites de neurones des couches profondes du mPFC (Mitrano et al 2014). De plus, certaines fonctions cognitives dépendent de l'action complémentaire de ces deux neuromodulateurs (Robbins & Arnsten 2009). A l'inverse, comme il existe une dissociation fonctionnelle entre les l'OFC et le dmPFC dans le contrôle de l'action dirigée, une dissociation fonctionnelle entre la NA et la DA pourrait aussi exister.

Un rôle de la NA sur les circuits de l'action dirigée ?

Il apparaît que les structures préfrontales opèrent de manière coordonnée afin de permettre l'intégration des informations nécessaires à l'action de l'organisme et qui semble maintenue à travers les espèces (O'Doherty et al 2017, Rushworth et al 2011). Néanmoins, la nature des interactions cortico-corticales à la base de l'action dirigée n'est pas connue et reste à l'heure actuelle une question ouverte

(Coutureau & Parkes 2018). A cet égard, il reste nécessaire de déterminer si l'influence de la NA que nous avons montré s'étend à ces autres régions corticales.

Comme mentionné précédemment, l'OFC et le dmPFC interagissent avec le DMS (Gremel et al 2016, Gremel & Costa 2013a, Hart et al 2018b). Le DMS semble donc être un point de convergence nécessaire au contrôle de l'action. L'intégration des processus cognitifs et la modulation de l'activité des neurones épineux moyens de la voie directe et indirecte est à l'origine de la performance de l'action (Peak et al 2019). Au contraire de l'action dopaminergique, l'influence de la NA sur de tels circuits préfronto-striataux, est mal connue, notamment en raison de la faible innervation noradrénergique dans le striatum (Zerbi et al 2019).

Nous avons vu que ces circuits de l'action dirigée intègrent également des composantes thalamiques. Outre le MD, d'autres régions thalamiques semblent être impliquées dans le contrôle de l'action et notamment sa flexibilité. Le Pf interagit avec les CINs du DMS et le noyau submédian semble être en étroite interaction avec l'OFC. Une caractérisation précise des projections du LC vers ces noyaux est nécessaire (McBride & Sutin 1976, Yoshida et al 1992). On peut néanmoins envisager que le LC soit capable de moduler de tels circuits. En effet, s'il semble que le LC soit capable de cibler sélectivement certaines structures (Likhtik & Johansen 2019), il est également admis que la modulation de certaines fonctions passe par son influence sur des circuits cérébraux à grande échelle (Bouret 2019). Conciliant l'idée de spécificité et d'action à grande échelle, Totah et al (2019) proposent que des assemblées neuronales au sein du LC, projetant vers différentes structures, puisse agir de manière coordonnée pour réguler l'activité de différentes structures intégrées dans de plus larges circuits fonctionnels. A l'instar de l'ensemble des fonctions cognitives, les processus de l'action dirigée sont basés sur la coordination de diverses régions cérébrales et sur laquelle pourrait agir le système LC/NA.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Adams CD. 1982. Variations in the sensitivity of instrumental responding to reinforcer devaluation. *The Quarterly Journal of Experimental Psychology* 34: 77-98
- Adams CD, Dickinson A. 1981. Instrumental Responding following Reinforcer Devaluation. *Quarterly Journal of Experimental Psychology* 33: 109-21
- Ader JP, Room P, Postema F, Korf J. 1980. Bilaterally diverging axon collaterals and contralateral projections from rat locus coeruleus neurons, demonstrated by fluorescent retrograde double labeling and norepinephrine metabolism. *J Neural Transm* 49: 207-8
- Agnati LF, Zoli M, Stromberg I, Fuxe K. 1995. Intercellular communication in the brain: wiring versus volume transmission. *Neuroscience* 69: 711-26
- Agster KL, Mejias-Aponte CA, Clark BD, Waterhouse BD. 2013. Evidence for a regional specificity in the density and distribution of noradrenergic varicosities in rat cortex. *J Comp Neurol* 521: 2195-207
- Ahrlund-Richter S, Xuan Y, van Lunteren JA, Kim H, Ortiz C, et al. 2019. A whole-brain atlas of monosynaptic input targeting four different cell types in the medial prefrontal cortex of the mouse. *Nat Neurosci* 22: 657-68
- Alcaraz F, Fresno V, Marchand AR, Kremer EJ, Coutureau E, Wolff M. 2018. Thalamocortical and corticothalamic pathways differentially contribute to goal-directed behaviors in the rat. *Elife* 7
- Alcaraz F, Marchand AR, Courtand G, Coutureau E, Wolff M. 2016. Parallel inputs from the mediodorsal thalamus to the prefrontal cortex in the rat. *Eur J Neurosci* 44: 1972-86
- Alcaraz F, Marchand AR, Vidal E, Guillou A, Faugere A, et al. 2015. Flexible Use of Predictive Cues beyond the Orbitofrontal Cortex: Role of the Submedial Thalamic Nucleus. *J Neurosci* 35: 13183-93
- Alexander GE, DeLong MR, Strick PL. 1986. Parallel organization of functionally segregated circuits linking basal ganglia and cortex. *Annu Rev Neurosci* 9: 357-81
- Alexander L, Clarke HF, Roberts AC. 2019. A Focus on the Functions of Area 25. *Brain Sci* 9
- Amemiya S, Redish AD. 2016. Manipulating Decisiveness in Decision Making: Effects of Clonidine on Hippocampal Search Strategies. *J Neurosci* 36: 814-27
- Andrews GD, Lavin A. 2006. Methylphenidate increases cortical excitability via activation of alpha-2 noradrenergic receptors. *Neuropsychopharmacology* 31: 594-601
- Aoki C, Venkatesan C, Go CG, Forman R, Kurose H. 1998a. Cellular and subcellular sites for noradrenergic action in the monkey dorsolateral prefrontal cortex as revealed by the immunocytochemical localization of noradrenergic receptors and axons. *Cereb Cortex* 8: 269-77
- Aoki C, Venkatesan C, Kurose H. 1998b. Noradrenergic modulation of the prefrontal cortex as revealed by electron microscopic immunocytochemistry. *Adv Pharmacol* 42: 777-80
- Armstrong-James M, Fox K. 1983. Effects of ionophoresed noradrenaline on the spontaneous activity of neurones in rat primary somatosensory cortex. *J Physiol* 335: 427-47
- Arnsten AF. 2000. Through the looking glass: differential noradrenergic modulation of prefrontal cortical function. *Neural Plast* 7: 133-46
- Arnsten AF. 2011. Catecholamine influences on dorsolateral prefrontal cortical networks. *Biol Psychiatry* 69: e89-99
- Arnsten AF, Goldman-Rakic PS. 1984. Selective prefrontal cortical projections to the region of the locus coeruleus and raphe nuclei in the rhesus monkey. *Brain Res* 306: 9-18
- Arnsten AF, Goldman-Rakic PS. 1985. Alpha 2-adrenergic mechanisms in prefrontal cortex associated with cognitive decline in aged nonhuman primates. *Science* 230: 1273-6
- Arnsten AF, Mathew R, Ubriani R, Taylor JR, Li BM. 1999. Alpha-1 noradrenergic receptor stimulation impairs prefrontal cortical cognitive function. *Biol Psychiatry* 45: 26-31

- Aston-Jones G, Bloom FE. 1981a. Activity of norepinephrine-containing locus coeruleus neurons in behaving rats anticipates fluctuations in the sleep-waking cycle. *J Neurosci* 1: 876-86
- Aston-Jones G, Bloom FE. 1981b. Norepinephrine-containing locus coeruleus neurons in behaving rats exhibit pronounced responses to non-noxious environmental stimuli. *J Neurosci* 1: 887-900
- Aston-Jones G, Cohen JD. 2005. An integrative theory of locus coeruleus-norepinephrine function: adaptive gain and optimal performance. *Annu Rev Neurosci* 28: 403-50
- Aston-Jones G, Rajkowski J, Cohen J. 1999. Role of locus coeruleus in attention and behavioral flexibility. *Biol Psychiatry* 46: 1309-20
- Aston-Jones G, Rajkowski J, Kubiak P. 1997. Conditioned responses of monkey locus coeruleus neurons anticipate acquisition of discriminative behavior in a vigilance task. *Neuroscience* 80: 697-715
- Aston-Jones G, Rajkowski J, Kubiak P, Alexinsky T. 1994. Locus coeruleus neurons in monkey are selectively activated by attended cues in a vigilance task. *J Neurosci* 14: 4467-80
- Aston-Jones G, Zhu Y, Card JP. 2004. Numerous GABAergic afferents to locus coeruleus in the pericoerulear dendritic zone: possible interneuronal pool. *J Neurosci* 24: 2313-21
- Aston Jones G. 2004. Locus Coeruleus, A5 and A7 Noradrenergic Cell Groups In *The Rat Nervous System (Third Edition)*, ed. G Paxinos, pp. 259-94. Academic Press
- Audet MA, Doucet G, Oleskevich S, Descarries L. 1988. Quantified regional and laminar distribution of the noradrenaline innervation in the anterior half of the adult rat cerebral cortex. *J Comp Neurol* 274: 307-18
- Bacon SJ, Headlam AJ, Gabbott PL, Smith AD. 1996. Amygdala input to medial prefrontal cortex (mPFC) in the rat: a light and electron microscope study. *Brain Res* 720: 211-9
- Baldo BA, Daniel RA, Berridge CW, Kelley AE. 2003. Overlapping distributions of orexin/hypocretin- and dopamine-beta-hydroxylase immunoreactive fibers in rat brain regions mediating arousal, motivation, and stress. *J Comp Neurol* 464: 220-37
- Balleine B. 1992. Instrumental performance following a shift in primary motivation depends on incentive learning. *J Exp Psychol Anim Behav Process* 18: 236-50
- Balleine B, Dickinson A. 1991. Instrumental Performance following Reinforcer Devaluation Depends upon Incentive Learning. *The Quarterly Journal of Experimental Psychology Section B* 43: 279-96
- Balleine B, Dickinson A. 1998a. The role of incentive learning in instrumental outcome revaluation by sensory-specific satiety. *Learning & Behavior* 26: 46-59
- Balleine BW. 2019. The Meaning of Behavior: Discriminating Reflex and Volition in the Brain. *Neuron* 104: 47-62
- Balleine BW, Dickinson A. 1994. Motivational control of goal-directed action. *Learning & Behavior* 22: 1-18
- Balleine BW, Dickinson A. 1998b. Goal-directed instrumental action: contingency and incentive learning and their cortical substrates. *Neuropharmacology* 37: 407-19
- Balleine BW, Dickinson A. 2000. The effect of lesions of the insular cortex on instrumental conditioning: evidence for a role in incentive memory. *J Neurosci* 20: 8954-64
- Balleine BW, Killcross AS, Dickinson A. 2003. The effect of lesions of the basolateral amygdala on instrumental conditioning. *J Neurosci* 23: 666-75
- Balleine BW, Leung BK, Ostlund SB. 2011. The orbitofrontal cortex, predicted value, and choice. *Ann N Y Acad Sci* 1239: 43-50
- Balleine BW, O'Doherty JP. 2010. Human and rodent homologies in action control: corticostriatal determinants of goal-directed and habitual action. *Neuropsychopharmacology* 35: 48-69
- Barbas H, Pandya DN. 1989. Architecture and intrinsic connections of the prefrontal cortex in the rhesus monkey. *J Comp Neurol* 286: 353-75
- Barker JM, Bryant KG, Chandler LJ. 2019. Inactivation of ventral hippocampus projections promotes sensitivity to changes in contingency. *Learn Mem* 26: 1-8
- Barker JM, Glen WB, Linsenhardt DN, Lapish CC, Chandler LJ. 2017. Habitual Behavior Is Mediated by a Shift in Response-Outcome Encoding by Infralimbic Cortex. *eNeuro* 4

- Barker JM, Torregrossa MM, Taylor JR. 2013. Bidirectional modulation of infralimbic dopamine D1 and D2 receptor activity regulates flexible reward seeking. *Front Neurosci* 7: 126
- Barsegyan A, McGaugh JL, Roozendaal B. 2014. Noradrenergic activation of the basolateral amygdala modulates the consolidation of object-in-context recognition memory. *Front Behav Neurosci* 8: 160
- Barsegyan A, Mirone G, Ronzoni G, Guo C, Song Q, et al. 2019. Glucocorticoid enhancement of recognition memory via basolateral amygdala-driven facilitation of prelimbic cortex interactions. *Proc Natl Acad Sci U S A* 116: 7077-82
- Behrens TEJ, Muller TH, Whittington JCR, Mark S, Baram AB, et al. 2018. What Is a Cognitive Map? Organizing Knowledge for Flexible Behavior. *Neuron* 100: 490-509
- Beier KT, Steinberg EE, DeLoach KE, Xie S, Miyamichi K, et al. 2015. Circuit Architecture of VTA Dopamine Neurons Revealed by Systematic Input-Output Mapping. *Cell* 162: 622-34
- Beldjoud H, Barsegyan A, Roozendaal B. 2015. Noradrenergic activation of the basolateral amygdala enhances object recognition memory and induces chromatin remodeling in the insular cortex. *Front Behav Neurosci* 9: 108
- Berendse HW, Galis-de Graaf Y, Groenewegen HJ. 1992. Topographical organization and relationship with ventral striatal compartments of prefrontal corticostriatal projections in the rat. *J Comp Neurol* 316: 314-47
- Berendse HW, Groenewegen HJ. 1991. Restricted cortical termination fields of the midline and intralaminar thalamic nuclei in the rat. *Neuroscience* 42: 73-102
- Berridge CW, Devilbiss DM, Andrzejewski ME, Arnsten AF, Kelley AE, et al. 2006. Methylphenidate preferentially increases catecholamine neurotransmission within the prefrontal cortex at low doses that enhance cognitive function. *Biol Psychiatry* 60: 1111-20
- Berridge CW, Foote SL. 1991. Effects of locus coeruleus activation on electroencephalographic activity in neocortex and hippocampus. *J Neurosci* 11: 3135-45
- Berridge CW, Isaac SO, Espana RA. 2003. Additive wake-promoting actions of medial basal forebrain noradrenergic alpha1- and beta-receptor stimulation. *Behav Neurosci* 117: 350-9
- Berridge CW, Page ME, Valentino RJ, Foote SL. 1993. Effects of locus coeruleus inactivation on electroencephalographic activity in neocortex and hippocampus. *Neuroscience* 55: 381-93
- Berridge CW, Schmeichel BE, Espana RA. 2012a. Noradrenergic modulation of wakefulness/arousal. *Sleep Med Rev* 16: 187-97
- Berridge CW, Shumsky JS, Andrzejewski ME, McGaughy JA, Spencer RC, et al. 2012b. Differential sensitivity to psychostimulants across prefrontal cognitive tasks: differential involvement of noradrenergic alpha(1) - and alpha(2)-receptors. *Biol Psychiatry* 71: 467-73
- Berridge CW, Spencer RC. 2016. Differential cognitive actions of norepinephrine a2 and a1 receptor signaling in the prefrontal cortex. *Brain Res* 1641: 189-96
- Berridge CW, Stratford TL, Foote SL, Kelley AE. 1997. Distribution of dopamine beta-hydroxylase-like immunoreactive fibers within the shell subregion of the nucleus accumbens. *Synapse* 27: 230-41
- Berridge CW, Waterhouse BD. 2003. The locus coeruleus-noradrenergic system: modulation of behavioral state and state-dependent cognitive processes. *Brain Res Brain Res Rev* 42: 33-84
- Berridge KC. 1991. Modulation of taste affect by hunger, caloric satiety, and sensory-specific satiety in the rat. *Appetite* 16: 103-20
- Birnbaum S, Gobecke KT, Auerbach J, Taylor JR, Arnsten AF. 1999. A role for norepinephrine in stress-induced cognitive deficits: alpha-1-adrenoceptor mediation in the prefrontal cortex. *Biol Psychiatry* 46: 1266-74
- Birnbaum SG, Yuan PX, Wang M, Vijayraghavan S, Bloom AK, et al. 2004. Protein kinase C overactivity impairs prefrontal cortical regulation of working memory. *Science* 306: 882-4
- Birrell JM, Brown VJ. 2000. Medial frontal cortex mediates perceptual attentional set shifting in the rat. *J Neurosci* 20: 4320-4
- Bjorklund A, Dunnett SB. 2007. Dopamine neuron systems in the brain: an update. *Trends Neurosci* 30: 194-202

- Blaschko H. 1957. Formation of catechol amines in the animal body. *Br Med Bull* 13: 162-5
- Bloom FE, Hoffer BJ, Siggins GR. 1971. Studies on norepinephrine-containing afferents to Purkinje cells of art cerebellum. I. Localization of the fibers and their synapses. *Brain Res* 25: 501-21
- Bloom FE, Hoffer BJ, Siggins GR. 1972. Norepinephrine mediated cerebellar synapses: a model system for neuropsychopharmacology. *Biol Psychiatry* 4: 157-77
- Blundell P, Hall G, Killcross S. 2001. Lesions of the basolateral amygdala disrupt selective aspects of reinforcer representation in rats. *J Neurosci* 21: 9018-26
- Boretius S, Kasper L, Tammer R, Michaelis T, Frahm J. 2009. MRI of cellular layers in mouse brain in vivo. *Neuroimage* 47: 1252-60
- Boulougouris V, Dalley JW, Robbins TW. 2007. Effects of orbitofrontal, infralimbic and prelimbic cortical lesions on serial spatial reversal learning in the rat. *Behav Brain Res* 179: 219-28
- Bouret S. 2019. Locus Coeruleus, Noradrenaline, and Behavior: Network Effect, Network Effects? *Neuron* 103: 554-56
- Bouret S, Ravel S, Richmond BJ. 2012. Complementary neural correlates of motivation in dopaminergic and noradrenergic neurons of monkeys. *Front Behav Neurosci* 6: 40
- Bouret S, Richmond BJ. 2010. Ventromedial and orbital prefrontal neurons differentially encode internally and externally driven motivational values in monkeys. *J Neurosci* 30: 8591-601
- Bouret S, Richmond BJ. 2015. Sensitivity of locus ceruleus neurons to reward value for goal-directed actions. *J Neurosci* 35: 4005-14
- Bouret S, Sara SJ. 2002. Locus coeruleus activation modulates firing rate and temporal organization of odour-induced single-cell responses in rat piriform cortex. *Eur J Neurosci* 16: 2371-82
- Bouret S, Sara SJ. 2004. Reward expectation, orientation of attention and locus coeruleus-medial frontal cortex interplay during learning. *J Neurosci* 24: 791-802
- Bouret S, Sara SJ. 2005. Network reset: a simplified overarching theory of locus coeruleus noradrenaline function. *Trends Neurosci* 28: 574-82
- Bouton ME. 2019. Extinction of instrumental (operant) learning: interference, varieties of context, and mechanisms of contextual control. *Psychopharmacology (Berl)* 236: 7-19
- Bouton ME, Todd TP. 2014. A fundamental role for context in instrumental learning and extinction. *Behav Processes* 104: 13-9
- Bradfield LA, Balleine BW. 2017. Thalamic Control of Dorsomedial Striatum Regulates Internal State to Guide Goal-Directed Action Selection. *J Neurosci* 37: 3721-33
- Bradfield LA, Bertran-Gonzalez J, Chieng B, Balleine BW. 2013. The thalamostriatal pathway and cholinergic control of goal-directed action: interlacing new with existing learning in the striatum. *Neuron* 79: 153-66
- Bradfield LA, Dezfouli A, van Holstein M, Chieng B, Balleine BW. 2015. Medial Orbitofrontal Cortex Mediates Outcome Retrieval in Partially Observable Task Situations. *Neuron* 88: 1268-80
- Bradfield LA, Hart G. 2019. Medial and lateral orbitofrontal cortices represent unique components of cognitive maps of task space. *PsyArXiv*
- Bradfield LA, Hart G, Balleine BW. 2018. Inferring action-dependent outcome representations depends on anterior but not posterior medial orbitofrontal cortex. *Neurobiol Learn Mem*
- Bradshaw SE, Agster KL, Waterhouse BD, McGaughy JA. 2016. Age-related changes in prefrontal norepinephrine transporter density: The basis for improved cognitive flexibility after low doses of atomoxetine in adolescent rats. *Brain Res* 1641: 245-57
- Breton-Provencher V, Sur M. 2019. Active control of arousal by a locus coeruleus GABAergic circuit. *Nat Neurosci* 22: 218-28
- Brodmann K. 1909. Vergleichende Lokalisationslehre der Grosshirnrinde in ihren Prinzipien dargestellt auf Grund des Zellenbaues. *Leipzig: Johann Ambrosius Barth*
- Brodmann K. 1912. Neue Ergebnisse ueber die Vergleichende histologische Localisation der Grosshirnrinde mit besonderer Berucksichtigung des Stirnhirns. *Anat. Anzeiger* 41: 157-216
- Brog JS, Salyapongse A, Deutch AY, Zahm DS. 1993. The patterns of afferent innervation of the core and shell in the "accumbens" part of the rat ventral striatum: immunohistochemical detection of retrogradely transported fluoro-gold. *J Comp Neurol* 338: 255-78

- Brown VJ, Bowman EM. 2002. Rodent models of prefrontal cortical function. *Trends Neurosci* 25: 340-3
- Bru T, Salinas S, Kremer EJ. 2010. An update on canine adenovirus type 2 and its vectors. *Viruses* 2: 2134-53
- Bruinstroop E, Cano G, Vanderhorst VG, Cavalcante JC, Wirth J, et al. 2012. Spinal projections of the A5, A6 (locus coeruleus), and A7 noradrenergic cell groups in rats. *J Comp Neurol* 520: 1985-2001
- Burgos-Robles A, Bravo-Rivera H, Quirk GJ. 2013. Prelimbic and infralimbic neurons signal distinct aspects of appetitive instrumental behavior. *PLoS One* 8: e57575
- Burke KA, Takahashi YK, Correll J, Brown PL, Schoenbaum G. 2009. Orbitofrontal inactivation impairs reversal of Pavlovian learning by interfering with 'disinhibition' of responding for previously unrewarded cues. *Eur J Neurosci* 30: 1941-6
- Carcea I, Insanally MN, Froemke RC. 2017. Dynamics of auditory cortical activity during behavioural engagement and auditory perception. *Nat Commun* 8: 14412
- Carlen M. 2017. What constitutes the prefrontal cortex? *Science* 358: 478-82
- Carli M, Robbins TW, Evenden JL, Everitt BJ. 1983. Effects of lesions to ascending noradrenergic neurones on performance of a 5-choice serial reaction task in rats; implications for theories of dorsal noradrenergic bundle function based on selective attention and arousal. *Behav Brain Res* 9: 361-80
- Carmichael ST, Price JL. 1996. Connectional networks within the orbital and medial prefrontal cortex of macaque monkeys. *J Comp Neurol* 371: 179-207
- Carter ME, Brill J, Bonnavion P, Huguenard JR, Huerta R, de Lecea L. 2012. Mechanism for Hypocretin-mediated sleep-to-wake transitions. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109: E2635-44
- Carter ME, Yizhar O, Chikahisa S, Nguyen H, Adamantidis A, et al. 2010. Tuning arousal with optogenetic modulation of locus coeruleus neurons. *Nat Neurosci* 13: 1526-33
- Cartoni E, Balleine B, Baldassarre G. 2016. Appetitive Pavlovian-instrumental Transfer: A review. *Neurosci Biobehav Rev* 71: 829-48
- Castro-Alamancos MA. 2009. Cortical up and activated states: implications for sensory information processing. *Neuroscientist* 15: 625-34
- Castro-Alamancos MA, Bezdudnaya T. 2015. Modulation of artificial whisking related signals in barrel cortex. *J Neurophysiol* 113: 1287-301
- Cerpa JC, Marchand AR, Coutureau E. 2019. Distinct regional patterns in noradrenergic innervation of the rat prefrontal cortex. *J Chem Neuroanat* 96: 102-09
- Chandler DJ, Gao WJ, Waterhouse BD. 2014. Heterogeneous organization of the locus coeruleus projections to prefrontal and motor cortices. *Proc Natl Acad Sci U S A* 111: 6816-21
- Chandler DJ, Lamperski CS, Waterhouse BD. 2013. Identification and distribution of projections from monoaminergic and cholinergic nuclei to functionally differentiated subregions of prefrontal cortex. *Brain Res* 1522: 38-58
- Chase EA, Tait DS, Brown VJ. 2012. Lesions of the orbital prefrontal cortex impair the formation of attentional set in rats. *Eur J Neurosci* 36: 2368-75
- Chiti Z, Teschemacher AG. 2007. Exocytosis of norepinephrine at axon varicosities and neuronal cell bodies in the rat brain. *FASEB J* 21: 2540-50
- Chudasama Y, Robbins TW. 2003. Dissociable contributions of the orbitofrontal and infralimbic cortex to pavlovian autoshaping and discrimination reversal learning: further evidence for the functional heterogeneity of the rodent frontal cortex. *J Neurosci* 23: 8771-80
- Clemens KJ, Castano MR, Cornish JL, Goodchild AK, Holmes NM. 2014. Behavioral and neural substrates of habit formation in rats intravenously self-administering nicotine. *Neuropsychopharmacology* 39: 2584-93
- Clewett D, Murty VP. 2019. Echoes of Emotions Past: How Neuromodulators Determine What We Recollect. *eNeuro* 6
- Cole BJ, Robbins TW. 1992. Forebrain norepinephrine: role in controlled information processing in the rat. *Neuropsychopharmacology* 7: 129-42

- Colwill RM, Rescorla RA. 1985a. Instrumental responding remains sensitive to reinforcer devaluation after extensive training. *Journal of Experimental Psychology* 11: 520-36
- Colwill RM, Rescorla RA. 1985b. Postconditioning devaluation of a reinforcer affects instrumental responding. *Journal of Experimental Psychology* 11: 120-32
- Colwill RM, Rescorla RA. 1986. Associative structures in instrumental learning, pp. 55-104. New York: Academic Press
- Conde F, Lund JS, Jacobowitz DM, Baimbridge KG, Lewis DA. 1994. Local circuit neurons immunoreactive for calretinin, calbindin D-28k or parvalbumin in monkey prefrontal cortex: distribution and morphology. *J Comp Neurol* 341: 95-116
- Constantinidis C, Funahashi S, Lee D, Murray JD, Qi XL, et al. 2018. Persistent Spiking Activity Underlies Working Memory. *J Neurosci* 38: 7020-28
- Constantinople CM, Bruno RM. 2011. Effects and mechanisms of wakefulness on local cortical networks. *Neuron* 69: 1061-8
- Cope ZA, Vazey EM, Floresco SB, Aston Jones GS. 2019. DREADD-mediated modulation of locus coeruleus inputs to mPFC improves strategy set-shifting. *Neurobiol Learn Mem* 161: 1-11
- Corbetta M, Kincade JM, Ollinger JM, McAvoy MP, Shulman GL. 2000. Voluntary orienting is dissociated from target detection in human posterior parietal cortex. *Nat Neurosci* 3: 292-7
- Corbetta M, Patel G, Shulman GL. 2008. The reorienting system of the human brain: from environment to theory of mind. *Neuron* 58: 306-24
- Corbetta M, Shulman GL. 2002. Control of goal-directed and stimulus-driven attention in the brain. *Nat Rev Neurosci* 3: 201-15
- Corbit LH, Balleine BW. 2000. The role of the hippocampus in instrumental conditioning. *J Neurosci* 20: 4233-9
- Corbit LH, Balleine BW. 2003. The role of prelimbic cortex in instrumental conditioning. *Behav Brain Res* 146: 145-57
- Corbit LH, Balleine BW. 2005. Double dissociation of basolateral and central amygdala lesions on the general and outcome-specific forms of pavlovian-instrumental transfer. *J Neurosci* 25: 962-70
- Corbit LH, Balleine BW. 2016. Learning and Motivational Processes Contributing to Pavlovian-Instrumental Transfer and Their Neural Bases: Dopamine and Beyond. *Curr Top Behav Neurosci* 27: 259-89
- Corbit LH, Chieng BC, Balleine BW. 2014. Effects of repeated cocaine exposure on habit learning and reversal by N-acetylcysteine. *Neuropsychopharmacology* 39: 1893-901
- Corbit LH, Janak PH. 2010. Posterior dorsomedial striatum is critical for both selective instrumental and Pavlovian reward learning. *Eur J Neurosci* 31: 1312-21
- Corbit LH, Leung BK, Balleine BW. 2013. The role of the amygdala-striatal pathway in the acquisition and performance of goal-directed instrumental actions. *J Neurosci* 33: 17682-90
- Corbit LH, Muir JL, Balleine BW. 2001. The role of the nucleus accumbens in instrumental conditioning: Evidence of a functional dissociation between accumbens core and shell. *J Neurosci* 21: 3251-60
- Corbit LH, Muir JL, Balleine BW. 2003. Lesions of mediodorsal thalamus and anterior thalamic nuclei produce dissociable effects on instrumental conditioning in rats. *Eur J Neurosci* 18: 1286-94
- Corbit LH, Nie H, Janak PH. 2012. Habitual alcohol seeking: time course and the contribution of subregions of the dorsal striatum. *Biol Psychiatry* 72: 389-95
- Corbit LH, Ostlund SB, Balleine BW. 2002. Sensitivity to instrumental contingency degradation is mediated by the entorhinal cortex and its efferents via the dorsal hippocampus. *J Neurosci* 22: 10976-84
- Coutureau E, Esclassan F, Di Scala G, Marchand AR. 2012. The role of the rat medial prefrontal cortex in adapting to changes in instrumental contingency. *PLoS One* 7: e33302
- Coutureau E, Killcross S. 2003. Inactivation of the infralimbic prefrontal cortex reinstates goal-directed responding in overtrained rats. *Behav Brain Res* 146: 167-74

- Coutureau E, Marchand AR, Di Scala G. 2009. Goal-directed responding is sensitive to lesions to the prelimbic cortex or basolateral nucleus of the amygdala but not to their disconnection. *Behav Neurosci* 123: 443-8
- Coutureau E, Parkes SL. 2018. Cortical Determinants of Goal-Directed Behavior In *Goal-Directed Decision Making*, ed. R Morris, A Bornstein, A Shenhav, pp. 179-97: Academic Press
- Cruz FC, Koya E, Guez-Barber DH, Bossert JM, Lupica CR, et al. 2013. New technologies for examining the role of neuronal ensembles in drug addiction and fear. *Nat Rev Neurosci* 14: 743-54
- Cushman F, Morris A. 2015. Habitual control of goal selection in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A* 112: 13817-22
- Dahlstrom A, Fuxe K. 1964. Localization of monoamines in the lower brain stem. *Experientia* 20: 398-9
- Dalton GL, Wang NY, Phillips AG, Floresco SB. 2016. Multifaceted Contributions by Different Regions of the Orbitofrontal and Medial Prefrontal Cortex to Probabilistic Reversal Learning. *J Neurosci* 36: 1996-2006
- Datta D, Arnsten AFT. 2018. Unique Molecular Regulation of Higher-Order Prefrontal Cortical Circuits: Insights into the Neurobiology of Schizophrenia. *ACS Chem Neurosci* 9: 2127-45
- Datta D, Yang ST, Galvin VC, Solder J, Luo F, et al. 2019. Noradrenergic alpha1-Adrenoceptor Actions in the Primate Dorsolateral Prefrontal Cortex. *J Neurosci* 39: 2722-34
- Daw ND, Niv Y, Dayan P. 2005. Uncertainty-based competition between prefrontal and dorsolateral striatal systems for behavioral control. *Nat Neurosci* 8: 1704-11
- Day HE, Campeau S, Watson SJ, Jr., Akil H. 1997. Distribution of alpha 1a-, alpha 1b- and alpha 1d-adrenergic receptor mRNA in the rat brain and spinal cord. *J Chem Neuroanat* 13: 115-39
- Dayan P, Yu AJ. 2006. Phasic norepinephrine: a neural interrupt signal for unexpected events. *Network* 17: 335-50
- de Borchgrave R, Rawlins JN, Dickinson A, Balleine BW. 2002. Effects of cytotoxic nucleus accumbens lesions on instrumental conditioning in rats. *Exp Brain Res* 144: 50-68
- de Medeiros GF, Lafenetre P, Janthakhin Y, Cerpa JC, Zhang CL, et al. 2019. Corticosteroid-Binding Globulin deficiency specifically impairs contextual and recognition memory consolidation in male mice. *Neuroendocrinology*
- De Sarro GB, Ascioti C, Froio F, Libri V, Nistico G. 1987. Evidence that locus coeruleus is the site where clonidine and drugs acting at alpha 1- and alpha 2-adrenoceptors affect sleep and arousal mechanisms. *Br J Pharmacol* 90: 675-85
- de Wit S, Dickinson A. 2009. Associative theories of goal-directed behaviour: a case for animal-human translational models. *Psychol Res* 73: 463-76
- de Wit S, Kindt M, Knot SL, Verhoeven AAC, Robbins TW, et al. 2018. Shifting the balance between goals and habits: Five failures in experimental habit induction. *J Exp Psychol Gen* 147: 1043-65
- Del Arco A, Park J, Wood J, Kim Y, Moghaddam B. 2017. Adaptive Encoding of Outcome Prediction by Prefrontal Cortex Ensembles Supports Behavioral Flexibility. *J Neurosci* 37: 8363-73
- Delfs JM, Zhu Y, Druhan JP, Aston-Jones GS. 1998. Origin of noradrenergic afferents to the shell subregion of the nucleus accumbens: anterograde and retrograde tract-tracing studies in the rat. *Brain Res* 806: 127-40
- Derusso AL, Fan D, Gupta J, Shelest O, Costa RM, Yin HH. 2010. Instrumental uncertainty as a determinant of behavior under interval schedules of reinforcement. *Front Integr Neurosci* 4
- Descarries L, Lemay B, Doucet G, Berger B. 1987. Regional and laminar density of the dopamine innervation in adult rat cerebral cortex. *Neuroscience* 21: 807-24
- Descarries L, Mechawar N. 2000. Ultrastructural evidence for diffuse transmission by monoamine and acetylcholine neurons of the central nervous system. *Prog Brain Res* 125: 27-47
- Descarries L, Watkins KC, Lapierre Y. 1977. Noradrenergic axon terminals in the cerebral cortex of rat. III. Topometric ultrastructural analysis. *Brain Res* 133: 197-222
- Devauges V, Sara SJ. 1990. Activation of the noradrenergic system facilitates an attentional shift in the rat. *Behav Brain Res* 39: 19-28
- Devauges V, Sara SJ. 1991. Memory retrieval enhancement by locus coeruleus stimulation: evidence for mediation by beta-receptors. *Behav Brain Res* 43: 93-7

- Devilbiss DM, Page ME, Waterhouse BD. 2006. Locus ceruleus regulates sensory encoding by neurons and networks in waking animals. *J Neurosci* 26: 9860-72
- Devilbiss DM, Waterhouse BD. 2000. Norepinephrine exhibits two distinct profiles of action on sensory cortical neuron responses to excitatory synaptic stimuli. *Synapse* 37: 273-82
- Devilbiss DM, Waterhouse BD. 2004. The effects of tonic locus ceruleus output on sensory-evoked responses of ventral posterior medial thalamic and barrel field cortical neurons in the awake rat. *J Neurosci* 24: 10773-85
- Deweer B, Sara SJ, Hars B. 1980. Contextual cues and memory retrieval in rats: Alleviation of forgetting by a pretest exposure to background stimuli. *Learn Behav* 8: 265-72
- Dezfouli A, Balleine BW. 2013. Actions, action sequences and habits: evidence that goal-directed and habitual action control are hierarchically organized. *PLoS Comput Biol* 9: e1003364
- Dias-Ferreira E, Sousa JC, Melo I, Morgado P, Mesquita AR, et al. 2009. Chronic stress causes frontostriatal reorganization and affects decision-making. *Science* 325: 621-5
- Dickinson A. 1985. Actions and habits: the development of behavioural autonomy. *Philosophical Transactions of The Royal Society B* 308
- Dickinson A. 1994. Instrumental Conditioning In *Animal Learning and Cognition*, ed. NJ Mackintosh, pp. 45-79: Academic Press
- Dickinson A. 2012. Associative learning and animal cognition. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 367: 2733-42
- Dickinson A, Mulatero CW. 1989. Reinforcer specificity of the suppression of instrumental performance on a non-contingent schedule. *Behav Processes* 19: 167-80
- Dickinson A, Nicholas DJ, Adams CD. 1983. The effect of the instrumental training contingency on susceptibility to reinforcer devaluation. *The Quarterly Journal of Experimental Psychology* 35: 35-51
- Dickinson A, Watt A, Griffiths WJH. 1992. Free-operant acquisition with delayed reinforcement. *The Quarterly Journal of Experimental Psychology* 45: 241-58
- Dickinson A, Wood N, Smith JW. 2002. Alcohol seeking by rats: action or habit? *Q J Exp Psychol B* 55: 331-48
- Domyancic AV, Morilak DA. 1997. Distribution of alpha1A adrenergic receptor mRNA in the rat brain visualized by in situ hybridization. *J Comp Neurol* 386: 358-78
- Eckenstein FP, Baughman RW, Quinn J. 1988. An anatomical study of cholinergic innervation in rat cerebral cortex. *Neuroscience* 25: 457-74
- Edeline JM, Manunta Y, Hennevin E. 2011. Induction of selective plasticity in the frequency tuning of auditory cortex and auditory thalamus neurons by locus coeruleus stimulation. *Hear Res* 274: 75-84
- Eschenko O, Magri C, Panzeri S, Sara SJ. 2012. Noradrenergic neurons of the locus coeruleus are phase locked to cortical up-down states during sleep. *Cereb Cortex* 22: 426-35
- Eschenko O, Sara SJ. 2008. Learning-dependent, transient increase of activity in noradrenergic neurons of locus coeruleus during slow wave sleep in the rat: brain stem-cortex interplay for memory consolidation? *Cereb Cortex* 18: 2596-603
- Espana RA, Berridge CW. 2006. Organization of noradrenergic efferents to arousal-related basal forebrain structures. *J Comp Neurol* 496: 668-83
- Fallon JH, Koziell DA, Moore RY. 1978. Catecholamine innervation of the basal forebrain. II. Amygdala, suprarhinal cortex and entorhinal cortex. *J Comp Neurol* 180: 509-32
- Fallon JH, Moore RY. 1978. Catecholamine innervation of the basal forebrain. IV. Topography of the dopamine projection to the basal forebrain and neostriatum. *J Comp Neurol* 180: 545-80
- Faure A, Haberland U, Conde F, El Massioui N. 2005. Lesion to the nigrostriatal dopamine system disrupts stimulus-response habit formation. *J Neurosci* 25: 2771-80
- Fazlali Z, Ranjbar-Slamloo Y, Adibi M, Arabzadeh E. 2016. Correlation between Cortical State and Locus Coeruleus Activity: Implications for Sensory Coding in Rat Barrel Cortex. *Front Neural Circuits* 10: 14

- Feierstein CE, Quirk MC, Uchida N, Sosulski DL, Mainen ZF. 2006. Representation of spatial goals in rat orbitofrontal cortex. *Neuron* 51: 495-507
- Feng J, Zhang C, Lischinsky JE, Jing M, Zhou J, et al. 2019. A Genetically Encoded Fluorescent Sensor for Rapid and Specific In Vivo Detection of Norepinephrine. *Neuron* 102: 745-61 e8
- Ferry B, Roozendaal B, McGaugh JL. 1999a. Basolateral amygdala noradrenergic influences on memory storage are mediated by an interaction between beta- and alpha1-adrenoceptors. *J Neurosci* 19: 5119-23
- Ferry B, Roozendaal B, McGaugh JL. 1999b. Involvement of alpha1-adrenoceptors in the basolateral amygdala in modulation of memory storage. *Eur J Pharmacol* 372: 9-16
- Fillinger C, Yalcin I, Barrot M, Veinante P. 2017. Afferents to anterior cingulate areas 24a and 24b and midcingulate areas 24a' and 24b' in the mouse. *Brain Struct Funct* 222: 1509-32
- Fillinger C, Yalcin I, Barrot M, Veinante P. 2018. Efferents of anterior cingulate areas 24a and 24b and midcingulate areas 24a' and 24b' in the mouse. *Brain Struct Funct* 223: 1747-78
- Floresco SB, Block AE, Tse MT. 2008. Inactivation of the medial prefrontal cortex of the rat impairs strategy set-shifting, but not reversal learning, using a novel, automated procedure. *Behav Brain Res* 190: 85-96
- Florin-Lechner SM, Druhan JP, Aston-Jones G, Valentino RJ. 1996. Enhanced norepinephrine release in prefrontal cortex with burst stimulation of the locus coeruleus. *Brain Res* 742: 89-97
- Floyd NS, Price JL, Ferry AT, Keay KA, Bandler R. 2001. Orbitomedial prefrontal cortical projections to hypothalamus in the rat. *J Comp Neurol* 432: 307-28
- Foote SL, Aston-Jones G, Bloom FE. 1980. Impulse activity of locus coeruleus neurons in awake rats and monkeys is a function of sensory stimulation and arousal. *Proc Natl Acad Sci U S A* 77: 3033-7
- Foote SL, Bloom FE, Aston-Jones G. 1983. Nucleus locus ceruleus: new evidence of anatomical and physiological specificity. *Physiol Rev* 63: 844-914
- Foote SL, Freedman R, Oliver AP. 1975. Effects of putative neurotransmitters on neuronal activity in monkey auditory cortex. *Brain Res* 86: 229-42
- Freedman R, Hoffer BJ, Woodward DJ, Puro D. 1977. Interaction of norepinephrine with cerebellar activity evoked by mossy and climbing fibers. *Exp Neurol* 55: 269-88
- Fresno V, Parkes SL, Faugere A, Coutureau E, Wolff M. 2019. A thalamocortical circuit for updating action-outcome associations. *Elife* 8
- Fritschy JM, Grzanna R. 1990. Distribution of locus coeruleus axons within the rat brainstem demonstrated by Phaseolus vulgaris leucoagglutinin anterograde tracing in combination with dopamine-beta-hydroxylase immunofluorescence. *J Comp Neurol* 293: 616-31
- Funahashi S, Bruce CJ, Goldman-Rakic PS. 1989. Mnemonic coding of visual space in the monkey's dorsolateral prefrontal cortex. *J Neurophysiol* 61: 331-49
- Furlong TM, Corbit LH, Brown RA, Balleine BW. 2018. Methamphetamine promotes habitual action and alters the density of striatal glutamate receptor and vesicular proteins in dorsal striatum. *Addict Biol* 23: 857-67
- Furuyashiki T, Holland PC, Gallagher M. 2008. Rat orbitofrontal cortex separately encodes response and outcome information during performance of goal-directed behavior. *J Neurosci* 28: 5127-38
- Fuster JM. 2015. Anatomy of the Prefrontal Cortex In *The Prefrontal Cortex (Fifth Edition)*, ed. JM Fuster, pp. 9-62. Academic Press
- Fuxe K, Hamberger B, Hokfelt T. 1968. Distribution of noradrenaline nerve terminals in cortical areas of the rat. *Brain Res* 8: 125-31
- Gabbott PL, Warner TA, Jays PR, Bacon SJ. 2003. Areal and synaptic interconnectivity of prelimbic (area 32), infralimbic (area 25) and insular cortices in the rat. *Brain Res* 993: 59-71
- Gabbott PL, Warner TA, Jays PR, Salway P, Busby SJ. 2005. Prefrontal cortex in the rat: projections to subcortical autonomic, motor, and limbic centers. *J Comp Neurol* 492: 145-77
- Garcia J. 1989. Food for Tolman: Cognition and cathexis in concert In *Aversion, avoidance and anxiety*, ed. T Archer, LG Nilsson. New York: Psychology Press

- Gardner MP, Conroy JC, Styer CV, Huynh T, Whitaker LR, Schoenbaum G. 2018. Medial orbitofrontal inactivation does not affect economic choice. *Elife* 7
- Gardner MPH, Conroy JS, Shaham MH, Styer CV, Schoenbaum G. 2017. Lateral Orbitofrontal Inactivation Dissociates Devaluation-Sensitive Behavior and Economic Choice. *Neuron* 96: 1192-203 e4
- Garr E, Bushra B, Tu N, Delamater AR. 2019. Goal-directed control on interval schedules does not depend on the action-outcome correlation. *J Exp Psychol Anim Learn Cogn*
- Gasser PJ, Lowry CA. 2018. Organic cation transporter 3: A cellular mechanism underlying rapid, non-genomic glucocorticoid regulation of monoaminergic neurotransmission, physiology, and behavior. *Horm Behav* 104: 173-82
- Gilzenrat MS, Nieuwenhuis S, Jepma M, Cohen JD. 2010. Pupil diameter tracks changes in control state predicted by the adaptive gain theory of locus coeruleus function. *Cogn Affect Behav Neurosci* 10: 252-69
- Giustino TF, Maren S. 2018. Noradrenergic Modulation of Fear Conditioning and Extinction. *Front Behav Neurosci* 12: 43
- Glascher J, Daw N, Dayan P, O'Doherty JP. 2010. States versus rewards: dissociable neural prediction error signals underlying model-based and model-free reinforcement learning. *Neuron* 66: 585-95
- Gogolla N. 2017. The insular cortex. *Curr Biol* 27: R580-R86
- Goldman-Rakic PS. 1995. Cellular basis of working memory. *Neuron* 14: 477-85
- Goldman-Rakic PS, Lidow MS, Gallager DW. 1990. Overlap of dopaminergic, adrenergic, and serotonergic receptors and complementarity of their subtypes in primate prefrontal cortex. *J Neurosci* 10: 2125-38
- Goodman J, Packard MG. 2015. The influence of cannabinoids on learning and memory processes of the dorsal striatum. *Neurobiol Learn Mem* 125: 1-14
- Gourley SL, Olevska A, Zimmermann KS, Ressler KJ, Dileone RJ, Taylor JR. 2013. The orbitofrontal cortex regulates outcome-based decision-making via the lateral striatum. *Eur J Neurosci* 38: 2382-8
- Granon S, Changeux JP. 2012. Deciding between conflicting motivations: what mice make of their prefrontal cortex. *Behav Brain Res* 229: 419-26
- Grant SJ, Aston-Jones G, Redmond DE, Jr. 1988. Responses of primate locus coeruleus neurons to simple and complex sensory stimuli. *Brain Res Bull* 21: 401-10
- Gremel CM, Chancey JH, Atwood BK, Luo G, Neve R, et al. 2016. Endocannabinoid Modulation of Orbitostriatal Circuits Gates Habit Formation. *Neuron* 90: 1312-24
- Gremel CM, Costa RM. 2013a. Orbitofrontal and striatal circuits dynamically encode the shift between goal-directed and habitual actions. *Nat Commun* 4: 2264
- Gremel CM, Costa RM. 2013b. Premotor cortex is critical for goal-directed actions. *Front Comput Neurosci* 7: 110
- Groenewegen HJ. 1988. Organization of the afferent connections of the mediodorsal thalamic nucleus in the rat, related to the mediodorsal-prefrontal topography. *Neuroscience* 24: 379-431
- Groenewegen HJ, Galis-de Graaf Y, Smeets WJ. 1999. Integration and segregation of limbic corticostriatal loops at the thalamic level: an experimental tracing study in rats. *J Chem Neuroanat* 16: 167-85
- Groenewegen HJ, Wright CI, Uylings HB. 1997. The anatomical relationships of the prefrontal cortex with limbic structures and the basal ganglia. *J Psychopharmacol* 11: 99-106
- Guedj C, Monfardini E, Reynaud AJ, Farne A, Meunier M, Hadj-Bouziane F. 2017. Boosting Norepinephrine Transmission Triggers Flexible Reconfiguration of Brain Networks at Rest. *Cereb Cortex* 27: 4691-700
- Guillem K, Ahmed SH. 2018. Preference for Cocaine is Represented in the Orbitofrontal Cortex by an Increased Proportion of Cocaine Use-Coding Neurons. *Cereb Cortex* 28: 819-32
- Guillem K, Ahmed SH. 2019. A neuronal population code for resemblance between drug and nondrug reward outcomes in the orbitofrontal cortex. *Brain Struct Funct* 224: 883-90

- Haber SN. 2017. Anatomy and Connectivity of the Reward Circuit In *Decision neuroscience: An integrative perspective*, ed. L Tremblay, J-C Dreher, pp. 3-19: San Diego, CA, US: Elsevier Academic Press
- Hamilton DA, Brigman JL. 2015. Behavioral flexibility in rats and mice: contributions of distinct frontocortical regions. *Genes Brain Behav* 14: 4-21
- Hammond LJ. 1980. The effect of contingency upon the appetitive conditioning of free-operant behavior. *J Exp Anal Behav* 34: 297-304
- Harley CW. 2007. Norepinephrine and the dentate gyrus. *Prog Brain Res* 163: 299-318
- Hart G, Balleine BW. 2016. Consolidation of Goal-Directed Action Depends on MAPK/ERK Signaling in Rodent Prelimbic Cortex. *J Neurosci* 36: 11974-86
- Hart G, Bradfield LA, Balleine BW. 2018a. Prefrontal Corticostriatal Disconnection Blocks the Acquisition of Goal-Directed Action. *J Neurosci* 38: 13111-22
- Hart G, Bradfield LA, Fok SY, Chieng B, Balleine BW. 2018b. The Bilateral Prefronto-striatal Pathway Is Necessary for Learning New Goal-Directed Actions. *Curr Biol* 28: 2218-29 e7
- Hasselmo ME. 1995. Neuromodulation and cortical function: modeling the physiological basis of behavior. *Behav Brain Res* 67: 1-27
- Heidbreder CA, Groenewegen HJ. 2003. The medial prefrontal cortex in the rat: evidence for a dorso-ventral distinction based upon functional and anatomical characteristics. *Neurosci Biobehav Rev* 27: 555-79
- Heilbronner SR, Rodriguez-Romaguera J, Quirk GJ, Groenewegen HJ, Haber SN. 2016. Circuit-Based Corticostriatal Homologies Between Rat and Primate. *Biol Psychiatry* 80: 509-21
- Hermans EJ, van Marle HJ, Ossewaarde L, Henckens MJ, Qin S, et al. 2011. Stress-related noradrenergic activity prompts large-scale neural network reconfiguration. *Science* 334: 1151-3
- Herry C, Ferraguti F, Singewald N, Letzkus JJ, Ehrlich I, Luthi A. 2010. Neuronal circuits of fear extinction. *Eur J Neurosci* 31: 599-612
- Hertz L, Lovatt D, Goldman SA, Nedergaard M. 2010. Adrenoceptors in brain: cellular gene expression and effects on astrocytic metabolism and [Ca(2+)]_i. *Neurochem Int* 57: 411-20
- Hirschberg S, Li Y, Randall A, Kremer EJ, Pickering AE. 2017. Functional dichotomy in spinal- vs prefrontal-projecting locus coeruleus modules splits descending noradrenergic analgesia from ascending aversion and anxiety in rats. *Elife* 6
- Hitchcott PK, Quinn JJ, Taylor JR. 2007. Bidirectional modulation of goal-directed actions by prefrontal cortical dopamine. *Cereb Cortex* 17: 2820-7
- Hobson JA, McCarley RW, Wyzinski PW. 1975. Sleep cycle oscillation: reciprocal discharge by two brainstem neuronal groups. *Science* 189: 55-8
- Hogarth L, Attwood AS, Bate HA, Munafo MR. 2012. Acute alcohol impairs human goal-directed action. *Biol Psychol* 90: 154-60
- Holets VR, Hokfelt T, Rokaeus A, Terenius L, Goldstein M. 1988. Locus coeruleus neurons in the rat containing neuropeptide Y, tyrosine hydroxylase or galanin and their efferent projections to the spinal cord, cerebral cortex and hypothalamus. *Neuroscience* 24: 893-906
- Holmes NM, Marchand AR, Coutureau E. 2010. Pavlovian to instrumental transfer: a neurobehavioural perspective. *Neurosci Biobehav Rev* 34: 1277-95
- Hoover WB, Vertes RP. 2007. Anatomical analysis of afferent projections to the medial prefrontal cortex in the rat. *Brain Struct Funct* 212: 149-79
- Hoover WB, Vertes RP. 2011. Projections of the medial orbital and ventral orbital cortex in the rat. *J Comp Neurol* 519: 3766-801
- Huang HP, Zhu FP, Chen XW, Xu ZQ, Zhang CX, Zhou Z. 2012. Physiology of quantal norepinephrine release from somatodendritic sites of neurons in locus coeruleus. *Front Mol Neurosci* 5: 29
- Huang S, Hugarir RL, Kirkwood A. 2013. Adrenergic gating of Hebbian spike-timing-dependent plasticity in cortical interneurons. *J Neurosci* 33: 13171-8
- Hull CL. 1943. *Principles of behavior: an introduction to behavior theory*. Oxford, England: Appleton-Century.

- Inazu M, Takeda H, Matsumiya T. 2003. Functional expression of the norepinephrine transporter in cultured rat astrocytes. *J Neurochem* 84: 136-44
- Ishimatsu M, Williams JT. 1996. Synchronous activity in locus coeruleus results from dendritic interactions in pericoerulear regions. *J Neurosci* 16: 5196-204
- Izquierdo A. 2017. Functional Heterogeneity within Rat Orbitofrontal Cortex in Reward Learning and Decision Making. *J Neurosci* 37: 10529-40
- Izquierdo A, Darling C, Manos N, Pozos H, Kim C, et al. 2013. Basolateral amygdala lesions facilitate reward choices after negative feedback in rats. *J Neurosci* 33: 4105-9
- Jahn CI, Gilardeau S, Varazzani C, Blain B, Sallet J, et al. 2018. Dual contributions of noradrenaline to behavioural flexibility and motivation. *Psychopharmacology (Berl)* 235: 2687-702
- Jennings JH, Kim CK, Marshel JH, Raffiee M, Ye L, et al. 2019. Interacting neural ensembles in orbitofrontal cortex for social and feeding behaviour. *Nature* 565: 645-49
- Jepma M, Brown S, Murphy PR, Koelewijn SC, de Vries B, et al. 2018. Noradrenergic and Cholinergic Modulation of Belief Updating. *J Cogn Neurosci*: 1-18
- Jepma M, Nieuwenhuis S. 2011. Pupil diameter predicts changes in the exploration-exploitation trade-off: evidence for the adaptive gain theory. *J Cogn Neurosci* 23: 1587-96
- Jodo E, Chiang C, Aston-Jones G. 1998. Potent excitatory influence of prefrontal cortex activity on noradrenergic locus coeruleus neurons. *Neuroscience* 83: 63-79
- Jones BE. 2019. Arousal and sleep circuits. *Neuropsychopharmacology*
- Joshi S, Li Y, Kalwani RM, Gold JJ. 2016. Relationships between Pupil Diameter and Neuronal Activity in the Locus Coeruleus, Colliculi, and Cingulate Cortex. *Neuron* 89: 221-34
- Kane GA, Vazey EM, Wilson RC, Shenhav A, Daw ND, et al. 2017. Increased locus coeruleus tonic activity causes disengagement from a patch-foraging task. *Cogn Affect Behav Neurosci* 17: 1073-83
- Kebschull JM, Garcia da Silva P, Reid AP, Peikon ID, Albeanu DF, Zador AM. 2016. High-Throughput Mapping of Single-Neuron Projections by Sequencing of Barcoded RNA. *Neuron* 91: 975-87
- Kempadoo KA, Mosharov EV, Choi SJ, Sulzer D, Kandel ER. 2016. Dopamine release from the locus coeruleus to the dorsal hippocampus promotes spatial learning and memory. *Proc Natl Acad Sci U S A* 113: 14835-40
- Keramati M, Smittenaar P, Dolan RJ, Dayan P. 2016. Adaptive integration of habits into depth-limited planning defines a habitual-goal-directed spectrum. *Proc Natl Acad Sci U S A* 113: 12868-73
- Kesner RP. 2000. Subregional analysis of mnemonic functions of the prefrontal cortex in the rat. *Psychobiology* 28: 219-28
- Killcross S, Coutureau E. 2003. Coordination of actions and habits in the medial prefrontal cortex of rats. *Cereb Cortex* 13: 400-8
- Kolb B. 2007. Do All Mammals Have a Prefrontal Cortex? In *Evolution of Nervous Systems*, ed. JH Kaas, pp. 443-50. Academic Press
- Kosaki Y, Dickinson A. 2010. Choice and contingency in the development of behavioral autonomy during instrumental conditioning. *J Exp Psychol Anim Behav Process* 36: 334-42
- Krettek JE, Price JL. 1977. The cortical projections of the mediodorsal nucleus and adjacent thalamic nuclei in the rat. *J Comp Neurol* 171: 157-91
- Kupalov PS. 1961. Some normal and pathological properties of nervous processes in the brain. *Ann N Y Acad Sci* 92: 1046-53
- LaLumiere RT, Buen TV, McGaugh JL. 2003. Post-training intra-basolateral amygdala infusions of norepinephrine enhance consolidation of memory for contextual fear conditioning. *J Neurosci* 23: 6754-8
- LaLumiere RT, McGaugh JL, McIntyre CK. 2017. Emotional Modulation of Learning and Memory: Pharmacological Implications. *Pharmacol Rev* 69: 236-55
- Lammel S, Hetzel A, Hackel O, Jones I, Liss B, Roeper J. 2008. Unique properties of mesoprefrontal neurons within a dual mesocorticolimbic dopamine system. *Neuron* 57: 760-73
- Langdon AJ, Song M, Niv Y. 2019. Uncovering the 'state': tracing the hidden state representations that structure learning and decision-making. *Behav Processes*: 103891

- Lapiz MD, Morilak DA. 2006. Noradrenergic modulation of cognitive function in rat medial prefrontal cortex as measured by attentional set shifting capability. *Neuroscience* 137: 1039-49
- Laubach M, Amarante LM, Swanson K, White SR. 2018. What, If Anything, Is Rodent Prefrontal Cortex? *eNeuro* 5
- Leonard CM. 1969. The prefrontal cortex of the rat. I. Cortical projection of the mediodorsal nucleus. II. Efferent connections. *Brain Res* 12: 321-43
- Leonard CM. 2016. Finding prefrontal cortex in the rat. *Brain Res* 1645: 1-3
- Levesque M, Parent A. 1998. Axonal arborization of corticostriatal and corticothalamic fibers arising from prelimbic cortex in the rat. *Cereb Cortex* 8: 602-13
- Levitt P, Moore RY. 1978. Noradrenaline neuron innervation of the neocortex in the rat. *Brain Res* 139: 219-31
- Lewis DA, Hashimoto T, Volk DW. 2005. Cortical inhibitory neurons and schizophrenia. *Nat Rev Neurosci* 6: 312-24
- Lewis DA, Morrison JH. 1989. Noradrenergic innervation of monkey prefrontal cortex: a dopamine-beta-hydroxylase immunohistochemical study. *J Comp Neurol* 282: 317-30
- Lex B, Hauber W. 2010. The role of dopamine in the prelimbic cortex and the dorsomedial striatum in instrumental conditioning. *Cereb Cortex* 20: 873-83
- Li BM, Mei ZT. 1994. Delayed-response deficit induced by local injection of the alpha 2-adrenergic antagonist yohimbine into the dorsolateral prefrontal cortex in young adult monkeys. *Behav Neural Biol* 62: 134-9
- Li G, Amano T, Pare D, Nair SS. 2011. Impact of infralimbic inputs on intercalated amygdala neurons: a biophysical modeling study. *Learn Mem* 18: 226-40
- Li SJ, Vaughan A, Sturgill JF, Kepecs A. 2018. A Viral Receptor Complementation Strategy to Overcome CAV-2 Tropism for Efficient Retrograde Targeting of Neurons. *Neuron* 98: 905-17 e5
- Li Y, Hickey L, Perrins R, Werlen E, Patel AA, et al. 2016. Retrograde optogenetic characterization of the pontospinal module of the locus coeruleus with a canine adenoviral vector. *Brain Res* 1641: 274-90
- Lichtenberg NT, Pennington ZT, Holley SM, Greenfield VY, Cepeda C, et al. 2017. Basolateral Amygdala to Orbitofrontal Cortex Projections Enable Cue-Triggered Reward Expectations. *J Neurosci* 37: 8374-84
- Likhtik E, Johansen JP. 2019. Neuromodulation in circuits of aversive emotional learning. *Nat Neurosci* 22: 1586-97
- Lim EP, Dawe GS, Jay TM. 2017. Activation of beta- and alpha-2-adrenoceptors in the basolateral amygdala has opposing effects on hippocampal-prefrontal long-term potentiation. *Neurobiol Learn Mem* 137: 163-70
- Lim EP, Tan CH, Jay TM, Dawe GS. 2010. Locus coeruleus stimulation and noradrenergic modulation of hippocampo-prefrontal cortex long-term potentiation. *Int J Neuropsychopharmacol* 13: 1219-31
- Lindvall O, Bjorklund A, Nobin A, Stenevi U. 1974. The adrenergic innervation of the rat thalamus as revealed by the glyoxylic acid fluorescence method. *J Comp Neurol* 154: 317-47
- Lingawi NW, Balleine BW. 2012. Amygdala central nucleus interacts with dorsolateral striatum to regulate the acquisition of habits. *J Neurosci* 32: 1073-81
- Linley SB, Hoover WB, Vertes RP. 2013. Pattern of distribution of serotonergic fibers to the orbitomedial and insular cortex in the rat. *J Chem Neuroanat* 48-49: 29-45
- Linster C, Hasselmo ME. 2001. Neuromodulation and the functional dynamics of piriform cortex. *Chem Senses* 26: 585-94
- Livingstone MS, Hubel DH. 1981. Effects of sleep and arousal on the processing of visual information in the cat. *Nature* 291: 554-61
- Loughlin A, Funk D, Coen K, Le AD. 2017. Habitual nicotine-seeking in rats following limited training. *Psychopharmacology (Berl)* 234: 2619-29

- Loughlin SE, Foote SL, Bloom FE. 1986a. Efferent projections of nucleus locus coeruleus: topographic organization of cells of origin demonstrated by three-dimensional reconstruction. *Neuroscience* 18: 291-306
- Loughlin SE, Foote SL, Fallon JH. 1982. Locus coeruleus projections to cortex: topography, morphology and collateralization. *Brain Res Bull* 9: 287-94
- Loughlin SE, Foote SL, Grzanna R. 1986b. Efferent projections of nucleus locus coeruleus: morphologic subpopulations have different efferent targets. *Neuroscience* 18: 307-19
- MacDonald E, Kobilka BK, Scheinin M. 1997. Gene targeting--homing in on alpha 2-adrenoceptor-subtype function. *Trends Pharmacol Sci* 18: 211-9
- Maheu FS, Joobar R, Beaulieu S, Lupien SJ. 2004. Differential effects of adrenergic and corticosteroid hormonal systems on human short- and long-term declarative memory for emotionally arousing material. *Behav Neurosci* 118: 420-8
- Mahler SV, Vazey EM, Beckley JT, Keistler CR, McGlinchey EM, et al. 2014. Designer receptors show role for ventral pallidum input to ventral tegmental area in cocaine seeking. *Nat Neurosci* 17: 577-85
- Malvaez M, Shieh C, Murphy MD, Greenfield VY, Wassum KM. 2019. Distinct cortical-amygdala projections drive reward value encoding and retrieval. *Nat Neurosci* 22: 762-69
- Manella LC, Petersen N, Linster C. 2017. Stimulation of the Locus Coeruleus Modulates Signal-to-Noise Ratio in the Olfactory Bulb. *J Neurosci* 37: 11605-15
- Manns ID, Lee MG, Modirrousta M, Hou YP, Jones BE. 2003. Alpha 2 adrenergic receptors on GABAergic, putative sleep-promoting basal forebrain neurons. *Eur J Neurosci* 18: 723-7
- Mantz J, Milla C, Glowinski J, Thierry AM. 1988. Differential effects of ascending neurons containing dopamine and noradrenaline in the control of spontaneous activity and of evoked responses in the rat prefrontal cortex. *Neuroscience* 27: 517-26
- Manunta Y, Edeline JM. 2004. Noradrenergic induction of selective plasticity in the frequency tuning of auditory cortex neurons. *J Neurophysiol* 92: 1445-63
- Marquis JP, Killcross S, Haddon JE. 2007. Inactivation of the prelimbic, but not infralimbic, prefrontal cortex impairs the contextual control of response conflict in rats. *Eur J Neurosci* 25: 559-66
- Mason ST, Fibiger HC. 1979. Regional topography within noradrenergic locus coeruleus as revealed by retrograde transport of horseradish peroxidase. *J Comp Neurol* 187: 703-24
- Mather M, Clewett D, Sakaki M, Harley CW. 2016. Norepinephrine ignites local hotspots of neuronal excitation: How arousal amplifies selectivity in perception and memory. *Behav Brain Sci* 39: e200
- McBride RL, Sutin J. 1976. Projections of the locus coeruleus and adjacent pontine tegmentum in the cat. *J Comp Neurol* 165: 265-84
- McCall JG, Al-Hasani R, Siuda ER, Hong DY, Norris AJ, et al. 2015. CRH Engagement of the Locus Coeruleus Noradrenergic System Mediates Stress-Induced Anxiety. *Neuron* 87: 605-20
- McCall JG, Siuda ER, Bhatti DL, Lawson LA, McElligott ZA, et al. 2017. Locus coeruleus to basolateral amygdala noradrenergic projections promote anxiety-like behavior. *Elife* 6
- McCormick DA. 1992. Neurotransmitter actions in the thalamus and cerebral cortex and their role in neuromodulation of thalamocortical activity. *Prog Neurobiol* 39: 337-88
- McCormick DA, Bal T. 1997. Sleep and arousal: thalamocortical mechanisms. *Annu Rev Neurosci* 20: 185-215
- McCormick DA, Prince DA. 1988. Noradrenergic modulation of firing pattern in guinea pig and cat thalamic neurons, in vitro. *J Neurophysiol* 59: 978-96
- McDannald MA, Lucantonio F, Burke KA, Niv Y, Schoenbaum G. 2011. Ventral striatum and orbitofrontal cortex are both required for model-based, but not model-free, reinforcement learning. *J Neurosci* 31: 2700-5
- McDannald MA, Saddoris MP, Gallagher M, Holland PC. 2005. Lesions of orbitofrontal cortex impair rats' differential outcome expectancy learning but not conditioned stimulus-potentiated feeding. *J Neurosci* 25: 4626-32

- McGaughy J, Ross RS, Eichenbaum H. 2008. Noradrenergic, but not cholinergic, deafferentation of prefrontal cortex impairs attentional set-shifting. *Neuroscience* 153: 63-71
- McReynolds JR, Donowho K, Abdi A, McGaugh JL, Roozendaal B, McIntyre CK. 2010. Memory-enhancing corticosterone treatment increases amygdala norepinephrine and Arc protein expression in hippocampal synaptic fractions. *Neurobiol Learn Mem* 93: 312-21
- McReynolds JR, Holloway-Erickson CM, Parmar TU, McIntyre CK. 2014. Corticosterone-induced enhancement of memory and synaptic Arc protein in the medial prefrontal cortex. *Neurobiol Learn Mem* 112: 148-57
- Mejias-Aponte CA, Drouin C, Aston-Jones G. 2009. Adrenergic and noradrenergic innervation of the midbrain ventral tegmental area and retrorubral field: prominent inputs from medullary homeostatic centers. *J Neurosci* 29: 3613-26
- Meyer HC, Bucci DJ. 2016. Imbalanced Activity in the Orbitofrontal Cortex and Nucleus Accumbens Impairs Behavioral Inhibition. *Curr Biol* 26: 2834-39
- Middleton FA, Strick PL. 2000. Basal ganglia output and cognition: evidence from anatomical, behavioral, and clinical studies. *Brain Cogn* 42: 183-200
- Miller KJ, Shenhav A, Ludvig EA. 2019. Habits without values. *Psychol Rev* 126: 292-311
- Milstein JA, Lehmann O, Theobald DE, Dalley JW, Robbins TW. 2007. Selective depletion of cortical noradrenaline by anti-dopamine beta-hydroxylase-saporin impairs attentional function and enhances the effects of guanfacine in the rat. *Psychopharmacology (Berl)* 190: 51-63
- Miner LH, Schroeter S, Blakely RD, Sesack SR. 2003. Ultrastructural localization of the norepinephrine transporter in superficial and deep layers of the rat prelimbic prefrontal cortex and its spatial relationship to probable dopamine terminals. *J Comp Neurol* 466: 478-94
- Mitrano DA, Pare JF, Smith Y, Weinschenker D. 2014. D1-dopamine and alpha1-adrenergic receptors co-localize in dendrites of the rat prefrontal cortex. *Neuroscience* 258: 90-100
- Miyake A, Friedman NP, Emerson MJ, Witzki AH, Howerter A, Wager TD. 2000. The unity and diversity of executive functions and their contributions to complex "Frontal Lobe" tasks: a latent variable analysis. *Cogn Psychol* 41: 49-100
- Moises HC, Waterhouse BD, Woodward DJ. 1981. Locus coeruleus stimulation potentiates Purkinje cell responses to afferent input: the climbing fiber system. *Brain Res* 222: 43-64
- Moises HC, Waterhouse BD, Woodward DJ. 1983. Locus coeruleus stimulation potentiates local inhibitory processes in rat cerebellum. *Brain Res Bull* 10: 795-804
- Mokler DJ, Miller CE, McGaughy JA. 2017. Evidence for a role of corticopetal, noradrenergic systems in the development of executive function. *Neurobiol Learn Mem* 143: 94-100
- Montague PR, Hyman SE, Cohen JD. 2004. Computational roles for dopamine in behavioural control. *Nature* 431: 760-7
- Morrison JH, Grzanna R, Molliver ME, Coyle JT. 1978. The distribution and orientation of noradrenergic fibers in neocortex of the rat: an immunofluorescence study. *J Comp Neurol* 181: 17-39
- Morrison JH, Molliver ME, Grzanna R. 1979a. Noradrenergic innervation of cerebral cortex: widespread effects of local cortical lesions. *Science* 205: 313-6
- Morrison JH, Molliver ME, Grzanna R, Coyle JT. 1979b. Noradrenergic innervation patterns in three regions of medial cortex: an immunofluorescence characterization. *Brain Res Bull* 4: 849-57
- Morrison JH, Molliver ME, Grzanna R, Coyle JT. 1981. The intra-cortical trajectory of the coeruleo-cortical projection in the rat: a tangentially organized cortical afferent. *Neuroscience* 6: 139-58
- Motaghi S, Sheibani V, Farazifard R, Joneidi H. 2006. Electrical stimulation of locus coeruleus strengthens the surround inhibition in layer V barrel cortex in rat. *Neurosci Lett* 401: 280-4
- Mouradian RD, Sessler FM, Waterhouse BD. 1991. Noradrenergic potentiation of excitatory transmitter action in cerebrocortical slices: evidence for mediation by an alpha 1 receptor-linked second messenger pathway. *Brain Res* 546: 83-95
- Mueller D, Porter JT, Quirk GJ. 2008. Noradrenergic signaling in infralimbic cortex increases cell excitability and strengthens memory for fear extinction. *J Neurosci* 28: 369-75
- Munster A, Hauber W. 2018. Medial Orbitofrontal Cortex Mediates Effort-related Responding in Rats. *Cereb Cortex* 28: 4379-89

- Murchison CF, Zhang XY, Zhang WP, Ouyang M, Lee A, Thomas SA. 2004. A distinct role for norepinephrine in memory retrieval. *Cell* 117: 131-43
- Murphy MJM, Deutch AY. 2018. Organization of afferents to the orbitofrontal cortex in the rat. *J Comp Neurol* 526: 1498-526
- Murugaiah KD, O'Donnell JM. 1995. Facilitation of norepinephrine release from cerebral cortex is mediated by beta 2-adrenergic receptors. *Life Sci* 57: PL327-32
- Nagatsu T. 2004. Progress in monoamine oxidase (MAO) research in relation to genetic engineering. *Neurotoxicology* 25: 11-20
- Nakayama H, Ibanez-Tallon I, Heintz N. 2018. Cell-Type-Specific Contributions of Medial Prefrontal Neurons to Flexible Behaviors. *J Neurosci* 38: 4490-504
- Namboodiri VMK, Otis JM, van Heeswijk K, Voets ES, Alghorazi RA, et al. 2019. Single-cell activity tracking reveals that orbitofrontal neurons acquire and maintain a long-term memory to guide behavioral adaptation. *Nat Neurosci* 22: 1110-21
- Naneix F, Marchand AR, Di Scala G, Pape JR, Coutureau E. 2009. A role for medial prefrontal dopaminergic innervation in instrumental conditioning. *J Neurosci* 29: 6599-606
- Naneix F, Marchand AR, Di Scala G, Pape JR, Coutureau E. 2012. Parallel maturation of goal-directed behavior and dopaminergic systems during adolescence. *J Neurosci* 32: 16223-32
- Naneix F, Marchand AR, Pichon A, Pape JR, Coutureau E. 2013. Adolescent stimulation of D2 receptors alters the maturation of dopamine-dependent goal-directed behavior. *Neuropsychopharmacology* 38: 1566-74
- Nassar MR, Rumsey KM, Wilson RC, Parikh K, Heasley B, Gold JJ. 2012. Rational regulation of learning dynamics by pupil-linked arousal systems. *Nat Neurosci* 15: 1040-6
- Navarra R, Graf R, Huang Y, Logue S, Comery T, et al. 2008. Effects of atomoxetine and methylphenidate on attention and impulsivity in the 5-choice serial reaction time test. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 32: 34-41
- Navarra RL, Clark BD, Zitnik GA, Waterhouse BD. 2013. Methylphenidate and atomoxetine enhance sensory-evoked neuronal activity in the visual thalamus of male rats. *Exp Clin Psychopharmacol* 21: 363-74
- Nelson A, Killcross S. 2006. Amphetamine exposure enhances habit formation. *J Neurosci* 26: 3805-12
- Nelson CN, Hoffer BJ, Chu NS, Bloom FE. 1973. Cytochemical and pharmacological studies on polysensory neurons in the primate frontal cortex. *Brain Res* 62: 115-33
- Neves RM, van Keulen S, Yang M, Logothetis NK, Eschenko O. 2018. Locus coeruleus phasic discharge is essential for stimulus-induced gamma oscillations in the prefrontal cortex. *J Neurophysiol* 119: 904-20
- Newman LA, Darling J, McGaughy J. 2008. Atomoxetine reverses attentional deficits produced by noradrenergic deafferentation of medial prefrontal cortex. *Psychopharmacology (Berl)* 200: 39-50
- Nicholas AP, Pieribone V, Hokfelt T. 1993a. Distributions of mRNAs for alpha-2 adrenergic receptor subtypes in rat brain: an in situ hybridization study. *J Comp Neurol* 328: 575-94
- Nicholas AP, Pieribone VA, Hokfelt T. 1993b. Cellular localization of messenger RNA for beta-1 and beta-2 adrenergic receptors in rat brain: an in situ hybridization study. *Neuroscience* 56: 1023-39
- Nordquist RE, Voorn P, de Mooij-van Malsen JG, Joosten RN, Pennartz CM, Vanderschuren LJ. 2007. Augmented reinforcer value and accelerated habit formation after repeated amphetamine treatment. *Eur Neuropsychopharmacol* 17: 532-40
- Novitskaya Y, Sara SJ, Logothetis NK, Eschenko O. 2016. Ripple-triggered stimulation of the locus coeruleus during post-learning sleep disrupts ripple/spindle coupling and impairs memory consolidation. *Learn Mem* 23: 238-48
- O'Doherty JP, Cockburn J, Pauli WM. 2017. Learning, Reward, and Decision Making. *Annu Rev Psychol* 68: 73-100

- O'Donnell J, Zeppenfeld D, McConnell E, Pena S, Nedergaard M. 2012. Norepinephrine: a neuromodulator that boosts the function of multiple cell types to optimize CNS performance. *Neurochem Res* 37: 2496-512
- O'Donnell JM. 1993. Effect of the beta-2 adrenergic agonist zinterol on norepinephrine turnover. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 80: 113-6
- Olpe HR, Glatt A, Laszlo J, Schellenberg A. 1980. Some electrophysiological and pharmacological properties of the cortical, noradrenergic projection of the locus coeruleus in the rat. *Brain Res* 186: 9-19
- Olpe HR, Steinmann M. 1991. Responses of locus coeruleus neurons to neuropeptides. *Prog Brain Res* 88: 241-8
- Olschowka JA, Molliver ME, Grzanna R, Rice FL, Coyle JT. 1981. Ultrastructural demonstration of noradrenergic synapses in the rat central nervous system by dopamine-beta-hydroxylase immunocytochemistry. *J Histochem Cytochem* 29: 271-80
- Olson L, Fuxe K. 1971. On the projections from the locus coeruleus noradrenaline neurons: the cerebellar innervation. *Brain Res* 28: 165-71
- Ongur D, Price JL. 2000. The organization of networks within the orbital and medial prefrontal cortex of rats, monkeys and humans. *Cereb Cortex* 10: 206-19
- Onos KD, Francoeur MJ, Wormwood BA, Miller RL, Gibson BM, Mair RG. 2016. Prefrontal Neurons Encode Actions and Outcomes in Conjunction with Spatial Location in Rats Performing a Dynamic Delayed Non-Match to Position Task. *PLoS One* 11: e0149019
- Ostlund SB, Balleine BW. 2005. Lesions of medial prefrontal cortex disrupt the acquisition but not the expression of goal-directed learning. *J Neurosci* 25: 7763-70
- Ostlund SB, Balleine BW. 2007. Orbitofrontal cortex mediates outcome encoding in Pavlovian but not instrumental conditioning. *J Neurosci* 27: 4819-25
- Ostlund SB, Balleine BW. 2008. Differential involvement of the basolateral amygdala and mediodorsal thalamus in instrumental action selection. *J Neurosci* 28: 4398-405
- Padoa-Schioppa C, Assad JA. 2006. Neurons in the orbitofrontal cortex encode economic value. *Nature* 441: 223-6
- Panayi MC, Killcross S. 2018. Functional heterogeneity within the rodent lateral orbitofrontal cortex dissociates outcome devaluation and reversal learning deficits. *Elife* 7
- Pandya DN, Yeterian EH. 1990. Prefrontal cortex in relation to other cortical areas in rhesus monkey: architecture and connections. *Prog Brain Res* 85: 63-94
- Papadopoulos GC, Parnavelas JG. 1991. Monoamine systems in the cerebral cortex: evidence for anatomical specificity. *Prog Neurobiol* 36: 195-200
- Papay R, Gaivin R, Jha A, McCune DF, McGrath JC, et al. 2006. Localization of the mouse alpha1A-adrenergic receptor (AR) in the brain: alpha1AAR is expressed in neurons, GABAergic interneurons, and NG2 oligodendrocyte progenitors. *J Comp Neurol* 497: 209-22
- Parent A. 2007. Felix Vicq d'Azyr: anatomy, medicine and revolution. *Can J Neurol Sci* 34: 30-7
- Parkes SL, Balleine BW. 2013. Incentive memory: evidence the basolateral amygdala encodes and the insular cortex retrieves outcome values to guide choice between goal-directed actions. *J Neurosci* 33: 8753-63
- Parkes SL, Bradfield LA, Balleine BW. 2015. Interaction of insular cortex and ventral striatum mediates the effect of incentive memory on choice between goal-directed actions. *J Neurosci* 35: 6464-71
- Parkes SL, Ferreira G, Coutureau E. 2016a. Acquisition of specific response-outcome associations requires NMDA receptor activation in the basolateral amygdala but not in the insular cortex. *Neurobiol Learn Mem* 128: 40-5
- Parkes SL, Marchand AR, Ferreira G, Coutureau E. 2016b. A time course analysis of satiety-induced instrumental outcome devaluation. *Learn Behav* 44: 347-55
- Parkes SL, Ravassard PM, Cerpa JC, Wolff M, Ferreira G, Coutureau E. 2018. Insular and Ventrolateral Orbitofrontal Cortices Differentially Contribute to Goal-Directed Behavior in Rodents. *Cereb Cortex* 28: 2313-25

- Parnaudeau S, Taylor K, Bolkan SS, Ward RD, Balsam PD, Kellendonk C. 2015. Mediodorsal thalamus hypofunction impairs flexible goal-directed behavior. *Biol Psychiatry* 77: 445-53
- Pascual J, del Arco C, Gonzalez AM, Pazos A. 1992. Quantitative light microscopic autoradiographic localization of alpha 2-adrenoceptors in the human brain. *Brain Res* 585: 116-27
- Patton MH, Roberts BM, Lovinger DM, Mathur BN. 2016. Ethanol Disinhibits Dorsolateral Striatal Medium Spiny Neurons Through Activation of A Presynaptic Delta Opioid Receptor. *Neuropsychopharmacology* 41: 1831-40
- Pavlov I. 1927. *Conditioned reflexes: an investigation of the physiological activity of the cerebral cortex*. England, Oxford University Press.
- Paxinos G, Franklin KBJ. 2012. *The Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates (Fourth Edition)*. Academic Press.
- Paxinos G, Watson C. 2007. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates (Sixth Edition)*. Academic Press. 456 pp.
- Paxinos G, Watson C. 2014. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates (Seventh edition)*. Academic Press. 472 pp.
- Peak J, Hart G, Balleine BW. 2019. From learning to action: the integration of dorsal striatal input and output pathways in instrumental conditioning. *Eur J Neurosci* 49: 658-71
- Petrides M, Pandya DN. 1984. Projections to the frontal cortex from the posterior parietal region in the rhesus monkey. *J Comp Neurol* 228: 105-16
- Petrides M, Pandya DN. 1988. Association fiber pathways to the frontal cortex from the superior temporal region in the rhesus monkey. *J Comp Neurol* 273: 52-66
- Petrides M, Tomaiuolo F, Yeterian EH, Pandya DN. 2012. The prefrontal cortex: comparative architectonic organization in the human and the macaque monkey brains. *Cortex* 48: 46-57
- Petrovich GD, Risold PY, Swanson LW. 1996. Organization of projections from the basomedial nucleus of the amygdala: a PHAL study in the rat. *J Comp Neurol* 374: 387-420
- Peyron C, Petit JM, Rampon C, Jouvet M, Luppi PH. 1998. Forebrain afferents to the rat dorsal raphe nucleus demonstrated by retrograde and anterograde tracing methods. *Neuroscience* 82: 443-68
- Pickens CL, Saddoris MP, Setlow B, Gallagher M, Holland PC, Schoenbaum G. 2003. Different roles for orbitofrontal cortex and basolateral amygdala in a reinforcer devaluation task. *J Neurosci* 23: 11078-84
- Pierce RC, Vanderschuren LJ. 2010. Kicking the habit: the neural basis of ingrained behaviors in cocaine addiction. *Neurosci Biobehav Rev* 35: 212-9
- Pieribone VA, Nicholas AP, Dagerlind A, Hokfelt T. 1994. Distribution of alpha 1 adrenoceptors in rat brain revealed by in situ hybridization experiments utilizing subtype-specific probes. *J Neurosci* 14: 4252-68
- Plummer NW, Scappini EL, Smith KG, Tucker CJ, Jensen P. 2017. Two Subpopulations of Noradrenergic Neurons in the Locus Coeruleus Complex Distinguished by Expression of the Dorsal Neural Tube Marker Pax7. *Front Neuroanat* 11: 60
- Preuschoff K, t Hart BM, Einhauser W. 2011. Pupil Dilation Signals Surprise: Evidence for Noradrenaline's Role in Decision Making. *Front Neurosci* 5: 115
- Preuss TM. 1995. Do rats have prefrontal cortex? The rose-woolsey-akert program reconsidered. *J Cogn Neurosci* 7: 1-24
- Price JL. 2007. Definition of the orbital cortex in relation to specific connections with limbic and visceral structures and other cortical regions. *Ann N Y Acad Sci* 1121: 54-71
- Quirarte GL, Galvez R, Roozendaal B, McGaugh JL. 1998. Norepinephrine release in the amygdala in response to footshock and opioid peptidergic drugs. *Brain Res* 808: 134-40
- Rajkowski J, Kubiak P, Aston-Jones G. 1994. Locus coeruleus activity in monkey: phasic and tonic changes are associated with altered vigilance. *Brain Res Bull* 35: 607-16
- Rajkowski J, Majczynski H, Clayton E, Aston-Jones G. 2004. Activation of monkey locus coeruleus neurons varies with difficulty and performance in a target detection task. *J Neurophysiol* 92: 361-71

- Ramos BP, Arnsten AF. 2007. Adrenergic pharmacology and cognition: focus on the prefrontal cortex. *Pharmacol Ther* 113: 523-36
- Ramos BP, Colgan L, Nou E, Ovadia S, Wilson SR, Arnsten AF. 2005. The beta-1 adrenergic antagonist, betaxolol, improves working memory performance in rats and monkeys. *Biol Psychiatry* 58: 894-900
- Ramos BP, Stark D, Verduzco L, van Dyck CH, Arnsten AF. 2006. Alpha2A-adrenoceptor stimulation improves prefrontal cortical regulation of behavior through inhibition of cAMP signaling in aging animals. *Learn Mem* 13: 770-6
- Rangel A, Camerer C, Montague PR. 2008. A framework for studying the neurobiology of value-based decision making. *Nat Rev Neurosci* 9: 545-56
- Reep R. 1984. Relationship between prefrontal and limbic cortex: A comparative anatomical review. *Brain, Behavior and Evolution* 25: 1-80
- Renteria R, Baltz ET, Gremel CM. 2018. Chronic alcohol exposure disrupts top-down control over basal ganglia action selection to produce habits. *Nat Commun* 9: 211
- Rescorla RA. 1991. Associative Relations in Instrumental Learning: The Eighteenth Bartlett Memorial Lecture. *The Quarterly Journal of Experimental Psychology Section B* 43: 1-23
- Rescorla RA. 1996. Response-outcome associations remain functional through interference treatments. *Learning & Behavior* 24: 450-58
- Rhodes SE, Murray EA. 2013. Differential effects of amygdala, orbital prefrontal cortex, and prelimbic cortex lesions on goal-directed behavior in rhesus macaques. *J Neurosci* 33: 3380-9
- Ricardo JA, Koh ET. 1978. Anatomical evidence of direct projections from the nucleus of the solitary tract to the hypothalamus, amygdala, and other forebrain structures in the rat. *Brain Res* 153: 1-26
- Rimmele U, Lackovic SF, Tobe RH, Leventhal BL, Phelps EA. 2016. Beta-adrenergic Blockade at Memory Encoding, but Not Retrieval, Decreases the Subjective Sense of Recollection. *J Cogn Neurosci* 28: 895-907
- Robbins TW, Arnsten AF. 2009. The neuropsychopharmacology of fronto-executive function: monoaminergic modulation. *Annu Rev Neurosci* 32: 267-87
- Robertson SD, Plummer NW, de Marchena J, Jensen P. 2013. Developmental origins of central norepinephrine neuron diversity. *Nat Neurosci* 16: 1016-23
- Robinson ES. 2012. Blockade of noradrenaline re-uptake sites improves accuracy and impulse control in rats performing a five-choice serial reaction time tasks. *Psychopharmacology (Berl)* 219: 303-12
- Roesch MR, Taylor AR, Schoenbaum G. 2006. Encoding of time-discounted rewards in orbitofrontal cortex is independent of value representation. *Neuron* 51: 509-20
- Rogawski MA, Aghajanian GK. 1980. Modulation of lateral geniculate neurone excitability by noradrenaline microiontophoresis or locus coeruleus stimulation. *Nature* 287: 731-4
- Rolls BJ. 1986. Sensory-specific satiety. *Nutr Rev* 44: 93-101
- Room P, Postema F, Korf J. 1981. Divergent axon collaterals of rat locus coeruleus neurons: demonstration by a fluorescent double labeling technique. *Brain Res* 221: 219-30
- Roosendaal B, McGaugh JL. 2011. Memory modulation. *Behav Neurosci* 125: 797-824
- Roosendaal B, Okuda S, Van der Zee EA, McGaugh JL. 2006. Glucocorticoid enhancement of memory requires arousal-induced noradrenergic activation in the basolateral amygdala. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103: 6741-6
- Roosendaal B, Schelling G, McGaugh JL. 2008. Corticotropin-releasing factor in the basolateral amygdala enhances memory consolidation via an interaction with the beta-adrenoceptor-cAMP pathway: dependence on glucocorticoid receptor activation. *J Neurosci* 28: 6642-51
- Rose JE, Woolsey CN. 1948. The orbitofrontal cortex and its connections with the mediodorsal nucleus in rabbit, sheep and cat. *Res Publ Assoc Res Nerv Ment Dis* 27 (1 vol.): 210-32
- Roth BL. 2016. DREADDs for Neuroscientists. *Neuron* 89: 683-94
- Roulet P, Sara S. 1998. Consolidation of memory after its reactivation: involvement of beta noradrenergic receptors in the late phase. *Neural Plast* 6: 63-8

- Rudebeck PH, Murray EA. 2011. Dissociable effects of subtotal lesions within the macaque orbital prefrontal cortex on reward-guided behavior. *J Neurosci* 31: 10569-78
- Rudebeck PH, Saunders RC, Lundgren DA, Murray EA. 2017. Specialized Representations of Value in the Orbital and Ventrolateral Prefrontal Cortex: Desirability versus Availability of Outcomes. *Neuron* 95: 1208-20 e5
- Rudebeck PH, Saunders RC, Prescott AT, Chau LS, Murray EA. 2013. Prefrontal mechanisms of behavioral flexibility, emotion regulation and value updating. *Nat Neurosci* 16: 1140-5
- Runegaard AH, Fitzpatrick CM, Woldbye DPD, Andreasen JT, Sorensen AT, Gether U. 2019. Modulating Dopamine Signaling and Behavior with Chemogenetics: Concepts, Progress, and Challenges. *Pharmacol Rev* 71: 123-56
- Runyan JD, Moore AN, Dash PK. 2005. A role for prefrontal calcium-sensitive protein phosphatase and kinase activities in working memory. *Learn Mem* 12: 103-10
- Rushworth MF, Noonan MP, Boorman ED, Walton ME, Behrens TE. 2011. Frontal cortex and reward-guided learning and decision-making. *Neuron* 70: 1054-69
- Sadacca BF, Wikenheiser AM, Schoenbaum G. 2016. Toward a theoretical role for tonic norepinephrine in the orbitofrontal cortex in facilitating flexible learning. *Neuroscience*
- Saez A, Rigotti M, Ostojic S, Fusi S, Salzman CD. 2015. Abstract Context Representations in Primate Amygdala and Prefrontal Cortex. *Neuron* 87: 869-81
- Salgado H, Kohr G, Trevino M. 2012. Noradrenergic 'tone' determines dichotomous control of cortical spike-timing-dependent plasticity. *Sci Rep* 2: 417
- Salgado H, Trevino M, Atzori M. 2016. Layer- and area-specific actions of norepinephrine on cortical synaptic transmission. *Brain Res* 1641: 163-76
- Santana N, Artigas F. 2017. Laminar and Cellular Distribution of Monoamine Receptors in Rat Medial Prefrontal Cortex. *Front Neuroanat* 11: 87
- Sara SJ. 1985. Noradrenergic modulation of selective attention: its role in memory retrieval. *Ann N Y Acad Sci* 444: 178-93
- Sara SJ, Bouret S. 2012. Orienting and reorienting: the locus coeruleus mediates cognition through arousal. *Neuron* 76: 130-41
- Sara SJ, Devauges V. 1988. Priming stimulation of locus coeruleus facilitates memory retrieval in the rat. *Brain Res* 438: 299-303
- Sara SJ, Devauges V. 1989. Idazoxan, an alpha-2 antagonist, facilitates memory retrieval in the rat. *Behav Neural Biol* 51: 401-11
- Sara SJ, Segal M. 1991. Plasticity of sensory responses of locus coeruleus neurons in the behaving rat: implications for cognition. *Prog Brain Res* 88: 571-85
- Sato H, Fox K, Daw NW. 1989. Effect of electrical stimulation of locus coeruleus on the activity of neurons in the cat visual cortex. *J Neurophysiol* 62: 946-58
- Scammell TE, Arrigoni E, Lipton JO. 2017. Neural Circuitry of Wakefulness and Sleep. *Neuron* 93: 747-65
- Schiff HC, Johansen JP, Hou M, Bush DE, Smith EK, et al. 2017. beta-Adrenergic Receptors Regulate the Acquisition and Consolidation Phases of Aversive Memory Formation Through Distinct, Temporally Regulated Signaling Pathways. *Neuropsychopharmacology* 42: 895-903
- Schilman EA, Uylings HB, Galis-de Graaf Y, Joel D, Groenewegen HJ. 2008. The orbital cortex in rats topographically projects to central parts of the caudate-putamen complex. *Neurosci Lett* 432: 40-5
- Schoenbaum G, Roesch MR, Stalnaker TA. 2006. Orbitofrontal cortex, decision-making and drug addiction. *Trends Neurosci* 29: 116-24
- Schoenbaum G, Setlow B, Ramus SJ. 2003. A systems approach to orbitofrontal cortex function: recordings in rat orbitofrontal cortex reveal interactions with different learning systems. *Behav Brain Res* 146: 19-29
- Schoenbaum G, Stalnaker TA, Niv Y. 2013. How did the chicken cross the road? With her striatal cholinergic interneurons, of course. *Neuron* 79: 3-6

- Schoenbaum G, Takahashi Y, Liu TL, McDannald MA. 2011. Does the orbitofrontal cortex signal value? *Ann N Y Acad Sci* 1239: 87-99
- Schuck NW, Cai MB, Wilson RC, Niv Y. 2016. Human Orbitofrontal Cortex Represents a Cognitive Map of State Space. *Neuron* 91: 1402-12
- Schultz W, Dickinson A. 2000. Neuronal coding of prediction errors. *Annu Rev Neurosci* 23: 473-500
- Schwabe L, Wolf OT. 2011. Stress-induced modulation of instrumental behavior: from goal-directed to habitual control of action. *Behav Brain Res* 219: 321-8
- Schwarz LA, Luo L. 2015. Organization of the locus coeruleus-norepinephrine system. *Curr Biol* 25: R1051-6
- Schwarz LA, Miyamichi K, Gao XJ, Beier KT, Weissbourd B, et al. 2015. Viral-genetic tracing of the input-output organization of a central noradrenaline circuit. *Nature* 524: 88-92
- Segal M, Bloom FE. 1976. The action of norepinephrine in the rat hippocampus. IV. The effects of locus coeruleus stimulation on evoked hippocampal unit activity. *Brain Res* 107: 513-25
- Seguela P, Watkins KC, Geffard M, Descarries L. 1990. Noradrenaline axon terminals in adult rat neocortex: an immunocytochemical analysis in serial thin sections. *Neuroscience* 35: 249-64
- Sesack SR, Deutch AY, Roth RH, Bunney BS. 1989. Topographical organization of the efferent projections of the medial prefrontal cortex in the rat: an anterograde tract-tracing study with Phaseolus vulgaris leucoagglutinin. *J Comp Neurol* 290: 213-42
- Shan Q, Ge M, Christie MJ, Balleine BW. 2014. The acquisition of goal-directed actions generates opposing plasticity in direct and indirect pathways in dorsomedial striatum. *J Neurosci* 34: 9196-201
- Sharpe MJ, Killcross S. 2014. The prelimbic cortex uses higher-order cues to modulate both the acquisition and expression of conditioned fear. *Front Syst Neurosci* 8: 235
- Sharpe MJ, Stalnaker T, Schuck NW, Killcross S, Schoenbaum G, Niv Y. 2019. An Integrated Model of Action Selection: Distinct Modes of Cortical Control of Striatal Decision Making. *Annu Rev Psychol* 70: 53-76
- Shi CJ, Cassell MD. 1998. Cortical, thalamic, and amygdaloid connections of the anterior and posterior insular cortices. *J Comp Neurol* 399: 440-68
- Shiflett MW, Balleine BW. 2010. At the limbic-motor interface: disconnection of basolateral amygdala from nucleus accumbens core and shell reveals dissociable components of incentive motivation. *Eur J Neurosci* 32: 1735-43
- Shiflett MW, Brown RA, Balleine BW. 2010. Acquisition and performance of goal-directed instrumental actions depends on ERK signaling in distinct regions of dorsal striatum in rats. *J Neurosci* 30: 2951-9
- Shipman ML, Trask S, Bouton ME, Green JT. 2018. Inactivation of prelimbic and infralimbic cortex respectively affects minimally-trained and extensively-trained goal-directed actions. *Neurobiol Learn Mem* 155: 164-72
- Simon NW, Wood J, Moghaddam B. 2015. Action-outcome relationships are represented differently by medial prefrontal and orbitofrontal cortex neurons during action execution. *J Neurophysiol* 114: 3374-85
- Simpson KL, Altman DW, Wang L, Kirifides ML, Lin RC, Waterhouse BD. 1997. Lateralization and functional organization of the locus coeruleus projection to the trigeminal somatosensory pathway in rat. *J Comp Neurol* 385: 135-47
- Simpson KL, Waterhouse BD, Lin RC. 1999. Origin, distribution, and morphology of galaninergic fibers in the rodent trigeminal system. *J Comp Neurol* 411: 524-34
- Singh A, Peyrache A, Humphries MD. 2019. Medial Prefrontal Cortex Population Activity Is Plastic Irrespective of Learning. *J Neurosci* 39: 3470-83
- Sirota A, Buzsaki G. 2005. Interaction between neocortical and hippocampal networks via slow oscillations. *Thalamus Relat Syst* 3: 245-59
- Skinner BF. 1938. *The behavior of organisms: An experimental analysis*. New York, Appleton-Century-Crofts.

- Smith KS, Bucci DJ, Luikart BW, Mahler SV. 2016. DREADDS: Use and application in behavioral neuroscience. *Behav Neurosci* 130: 137-55
- Spencer RC, Berridge CW. 2019. Receptor and circuit mechanisms underlying differential procognitive actions of psychostimulants. *Neuropsychopharmacology* 44: 1820-27
- Stachniak TJ, Ghosh A, Sternson SM. 2014. Chemogenetic synaptic silencing of neural circuits localizes a hypothalamus-->midbrain pathway for feeding behavior. *Neuron* 82: 797-808
- Stalnaker TA, Berg B, Aujla N, Schoenbaum G. 2016. Cholinergic Interneurons Use Orbitofrontal Input to Track Beliefs about Current State. *J Neurosci* 36: 6242-57
- Stalnaker TA, Cooch NK, McDannald MA, Liu TL, Wied H, Schoenbaum G. 2014. Orbitofrontal neurons infer the value and identity of predicted outcomes. *Nat Commun* 5: 3926
- Steiner AP, Redish AD. 2012. The road not taken: neural correlates of decision making in orbitofrontal cortex. *Front Neurosci* 6: 131
- Steriade M. 1997. Synchronized activities of coupled oscillators in the cerebral cortex and thalamus at different levels of vigilance. *Cereb Cortex* 7: 583-604
- Sterpenich V, D'Argembeau A, Desseilles M, Balteau E, Albouy G, et al. 2006. The locus ceruleus is involved in the successful retrieval of emotional memories in humans. *J Neurosci* 26: 7416-23
- Stone TW. 1973. Pharmacology of pyramidal tract cells in the cerebral cortex. Noradrenaline and related substances. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 278: 333-46
- Stopper CM, Green EB, Floresco SB. 2014. Selective involvement by the medial orbitofrontal cortex in biasing risky, but not impulsive, choice. *Cereb Cortex* 24: 154-62
- Sudhof TC, Rizo J. 2011. Synaptic vesicle exocytosis. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 3
- Summers RJ, Papaioannou M, Harris S, Evans BA. 1995. Expression of beta 3-adrenoceptor mRNA in rat brain. *Br J Pharmacol* 116: 2547-8
- Swanson AM, DePoy LM, Gourley SL. 2017. Inhibiting Rho kinase promotes goal-directed decision making and blocks habitual responding for cocaine. *Nat Commun* 8: 1861
- Swanson LW. 1976. The locus coeruleus: a cytoarchitectonic, Golgi and immunohistochemical study in the albino rat. *Brain Res* 110: 39-56
- Swanson LW. 2004. *Brain maps: Structure of the rat brain. A laboratory guide with printed and electronic templates for data, models and schematics (3rd ed.)*. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier.
- Szabadi E. 2013. Functional neuroanatomy of the central noradrenergic system. *J Psychopharmacol* 27: 659-93
- Tait DS, Brown VJ, Farovik A, Theobald DE, Dalley JW, Robbins TW. 2007. Lesions of the dorsal noradrenergic bundle impair attentional set-shifting in the rat. *Eur J Neurosci* 25: 3719-24
- Tanaka SC, Balleine BW, O'Doherty JP. 2008. Calculating consequences: brain systems that encode the causal effects of actions. *J Neurosci* 28: 6750-5
- Tervo DGR, Proskurin M, Manakov M, Kabra M, Vollmer A, et al. 2014. Behavioral variability through stochastic choice and its gating by anterior cingulate cortex. *Cell* 159: 21-32
- Thorndike EL. 1911. *Animal Intelligence: Experimental Studies*. New York, The Macmillan company.
- Thrailkill EA, Bouton ME. 2015. Contextual control of instrumental actions and habits. *J Exp Psychol Anim Learn Cogn* 41: 69-80
- Torres GE, Gainetdinov RR, Caron MG. 2003. Plasma membrane monoamine transporters: structure, regulation and function. *Nat Rev Neurosci* 4: 13-25
- Totah NKB, Logothetis NK, Eschenko O. 2019. Noradrenergic ensemble-based modulation of cognition over multiple timescales. *Brain Res* 1709: 50-66
- Tran-Tu-Yen DA, Marchand AR, Pape JR, Di Scala G, Coutureau E. 2009. Transient role of the rat prelimbic cortex in goal-directed behaviour. *Eur J Neurosci* 30: 464-71
- Trask S, Bouton ME. 2014. Contextual control of operant behavior: evidence for hierarchical associations in instrumental learning. *Learn Behav* 42: 281-8
- Tronel S, Feenstra MG, Sara SJ. 2004. Noradrenergic action in prefrontal cortex in the late stage of memory consolidation. *Learn Mem* 11: 453-8

- Tsutsui KI, Oyama K, Nakamura S, Iijima T. 2016. Comparative Overview of Visuospatial Working Memory in Monkeys and Rats. *Front Syst Neurosci* 10: 99
- Tubbs RS, Loukas M, Shoja MM, Mortazavi MM, Cohen-Gadol AA. 2011. Felix Vicq d'Azyr (1746-1794): early founder of neuroanatomy and royal French physician. *Childs Nerv Syst* 27: 1031-4
- Uematsu A, Tan BZ, Ycu EA, Cuevas JS, Koivumaa J, et al. 2017. Modular organization of the brainstem noradrenaline system coordinates opposing learning states. *Nat Neurosci* 20: 1602-11
- Ungerstedt U. 1971. Stereotaxic mapping of the monoamine pathways in the rat brain. *Acta Physiol Scand Suppl* 367: 1-48
- Usher M, Cohen JD, Servan-Schreiber D, Rajkowski J, Aston-Jones G. 1999. The role of locus coeruleus in the regulation of cognitive performance. *Science* 283: 549-54
- Uylings HB, Groenewegen HJ, Kolb B. 2003. Do rats have a prefrontal cortex? *Behav Brain Res* 146: 3-17
- Uylings HB, van Eden CG. 1990. Qualitative and quantitative comparison of the prefrontal cortex in rat and in primates, including humans. *Prog Brain Res* 85: 31-62
- Valentino RJ, Van Bockstaele E. 2008. Convergent regulation of locus coeruleus activity as an adaptive response to stress. *Eur J Pharmacol* 583: 194-203
- Van Bockstaele EJ, Colago EE, Aicher S. 1998. Light and electron microscopic evidence for topographic and monosynaptic projections from neurons in the ventral medulla to noradrenergic dendrites in the rat locus coeruleus. *Brain Res* 784: 123-38
- Van Bockstaele EJ, Peoples J, Telegan P. 1999. Efferent projections of the nucleus of the solitary tract to peri-locus coeruleus dendrites in rat brain: evidence for a monosynaptic pathway. *J Comp Neurol* 412: 410-28
- Van De Werd HJ, Rajkowska G, Evers P, Uylings HB. 2010. Cytoarchitectonic and chemoarchitectonic characterization of the prefrontal cortical areas in the mouse. *Brain Struct Funct* 214: 339-53
- Van De Werd HJ, Uylings HB. 2008. The rat orbital and agranular insular prefrontal cortical areas: a cytoarchitectonic and chemoarchitectonic study. *Brain Struct Funct* 212: 387-401
- Van Eden CG, Hoorneman EM, Buijs RM, Matthijssen MA, Geffard M, Uylings HB. 1987. Immunocytochemical localization of dopamine in the prefrontal cortex of the rat at the light and electron microscopical level. *Neuroscience* 22: 849-62
- Van Eden CG, Uylings HB. 1985. Cytoarchitectonic development of the prefrontal cortex in the rat. *J Comp Neurol* 241: 253-67
- Vandaele Y, Vouillac-Mendoza C, Ahmed SH. 2019. Inflexible habitual decision-making during choice between cocaine and a nondrug alternative. *Transl Psychiatry* 9: 109
- Vanderwolf CH, Robinson TE. 1981. Reticulo-cortical activity and behavior: A critique of the arousal theory and a new synthesis. *Behavioral and Brain Sciences* 4: 459-76
- Vankov A, Herve-Minvielle A, Sara SJ. 1995. Response to novelty and its rapid habituation in locus coeruleus neurons of the freely exploring rat. *Eur J Neurosci* 7: 1180-7
- Varazzani C, San-Galli A, Gilardeau S, Bouret S. 2015. Noradrenaline and dopamine neurons in the reward/effort trade-off: a direct electrophysiological comparison in behaving monkeys. *J Neurosci* 35: 7866-77
- Vazey EM, Moorman DE, Aston-Jones G. 2018. Phasic locus coeruleus activity regulates cortical encoding of salience information. *Proc Natl Acad Sci U S A* 115: E9439-E48
- Verkhatsky A, Nedergaard M. 2018. Physiology of Astroglia. *Physiol Rev* 98: 239-389
- Vertes RP. 2004. Differential projections of the infralimbic and prelimbic cortex in the rat. *Synapse* 51: 32-58
- Vogt BA. 2009. Regions and Subregions of the Cingulate Cortex In *Cingulate Neurobiology and Disease*, ed. BA Vogt, pp. 3-30. Oxford University Press, London
- Vogt BA, Hof PR, Zilles K, Vogt LJ, Herold C, Palomero-Gallagher N. 2013. Cingulate area 32 homologues in mouse, rat, macaque and human: cytoarchitecture and receptor architecture. *J Comp Neurol* 521: 4189-204
- Vogt BA, Pandya DN, Rosene DL. 1987. Cingulate cortex of the rhesus monkey: I. Cytoarchitecture and thalamic afferents. *J Comp Neurol* 262: 256-70

- Vogt BA, Paxinos G. 2014. Cytoarchitecture of mouse and rat cingulate cortex with human homologies. *Brain Struct Funct* 219: 185-92
- Vogt M. 1954. The concentration of sympathin in different parts of the central nervous system under normal conditions and after the administration of drugs. *J Physiol* 123: 451-81
- Von Euler US. 1951. The nature of adrenergic nerve mediators. *Pharmacol Rev* 3: 247-77
- Voorn P, Vanderschuren LJ, Groenewegen HJ, Robbins TW, Pennartz CM. 2004. Putting a spin on the dorsal-ventral divide of the striatum. *Trends Neurosci* 27: 468-74
- Walker AE. 1940. A cytoarchitectural study of the prefrontal area of the macaque monkey. *Journal of Comparative Neurology* 73: 59-86
- Wallis CU, Cardinal RN, Alexander L, Roberts AC, Clarke HF. 2017. Opposing roles of primate areas 25 and 32 and their putative rodent homologs in the regulation of negative emotion. *Proc Natl Acad Sci U S A* 114: E4075-E84
- Walton ME, Behrens TE, Buckley MJ, Rudebeck PH, Rushworth MF. 2010. Separable learning systems in the macaque brain and the role of orbitofrontal cortex in contingent learning. *Neuron* 65: 927-39
- Walton ME, Behrens TE, Noonan MP, Rushworth MF. 2011. Giving credit where credit is due: orbitofrontal cortex and valuation in an uncertain world. *Ann N Y Acad Sci* 1239: 14-24
- Walton ME, Bouret S. 2019. What Is the Relationship between Dopamine and Effort? *Trends Neurosci* 42: 79-91
- Wang M, Ramos BP, Paspalas CD, Shu Y, Simen A, et al. 2007. Alpha2A-adrenoceptors strengthen working memory networks by inhibiting cAMP-HCN channel signaling in prefrontal cortex. *Cell* 129: 397-410
- Warren RA, Dykes RW. 1996. Transient and long-lasting effects of iontophoretically administered norepinephrine on somatosensory cortical neurons in halothane-anesthetized cats. *Can J Physiol Pharmacol* 74: 38-57
- Wassum KM, Ostlund SB, Maidment NT, Balleine BW. 2009. Distinct opioid circuits determine the palatability and the desirability of rewarding events. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106: 12512-7
- Wassum KM, Tolosa VM, Tseng TC, Balleine BW, Monbouquette HG, Maidment NT. 2012. Transient extracellular glutamate events in the basolateral amygdala track reward-seeking actions. *J Neurosci* 32: 2734-46
- Waterhouse BD, Azizi SA, Burne RA, Woodward DJ. 1990. Modulation of rat cortical area 17 neuronal responses to moving visual stimuli during norepinephrine and serotonin microiontophoresis. *Brain Res* 514: 276-92
- Waterhouse BD, Moises HC, Woodward DJ. 1981. Alpha-receptor-mediated facilitation of somatosensory cortical neuronal responses to excitatory synaptic inputs and iontophoretically applied acetylcholine. *Neuropharmacology* 20: 907-20
- Waterhouse BD, Sessler FM, Cheng JT, Woodward DJ, Azizi SA, Moises HC. 1988. New evidence for a gating action of norepinephrine in central neuronal circuits of mammalian brain. *Brain Res Bull* 21: 425-32
- Waterhouse BD, Woodward DJ. 1980. Interaction of norepinephrine with cerebrocortical activity evoked by stimulation of somatosensory afferent pathways in the rat. *Exp Neurol* 67: 11-34
- Whitaker LR, Warren BL, Venniro M, Harte TC, McPherson KB, et al. 2017. Bidirectional Modulation of Intrinsic Excitability in Rat Prelimbic Cortex Neuronal Ensembles and Non-Ensembles after Operant Learning. *J Neurosci* 37: 8845-56
- Whyte AJ, Kietzman HW, Swanson AM, Butkovich LM, Barbee BR, et al. 2019. Reward-Related Expectations Trigger Dendritic Spine Plasticity in the Mouse Ventrolateral Orbitofrontal Cortex. *J Neurosci* 39: 4595-605
- Wikenheiser AM, Schoenbaum G. 2016. Over the river, through the woods: cognitive maps in the hippocampus and orbitofrontal cortex. *Nat Rev Neurosci* 17: 513-23
- Wilson RC, Takahashi YK, Schoenbaum G, Niv Y. 2014. Orbitofrontal cortex as a cognitive map of task space. *Neuron* 81: 267-79

- Wise SP. 2008. Forward frontal fields: phylogeny and fundamental function. *Trends Neurosci* 31: 599-608
- Wyrofsky RR, Reyes BAS, Zhang XY, Bhatnagar S, Kirby LG, Van Bockstaele EJ. 2019. Endocannabinoids, stress signaling, and the locus coeruleus-norepinephrine system. *Neurobiol Stress* 11: 100176
- Yackle K, Schwarz LA, Kam K, Sorokin JM, Huguenard JR, et al. 2017. Breathing control center neurons that promote arousal in mice. *Science* 355: 1411-15
- Yin HH, Knowlton BJ. 2006. The role of the basal ganglia in habit formation. *Nat Rev Neurosci* 7: 464-76
- Yin HH, Knowlton BJ, Balleine BW. 2005a. Blockade of NMDA receptors in the dorsomedial striatum prevents action-outcome learning in instrumental conditioning. *Eur J Neurosci* 22: 505-12
- Yin HH, Knowlton BJ, Balleine BW. 2006. Inactivation of dorsolateral striatum enhances sensitivity to changes in the action-outcome contingency in instrumental conditioning. *Behav Brain Res* 166: 189-96
- Yin HH, Ostlund SB, Knowlton BJ, Balleine BW. 2005b. The role of the dorsomedial striatum in instrumental conditioning. *Eur J Neurosci* 22: 513-23
- Yoshida A, Dostrovsky JO, Chiang CY. 1992. The afferent and efferent connections of the nucleus submedialis in the rat. *J Comp Neurol* 324: 115-33
- Young JJ, Shapiro ML. 2011. Dynamic coding of goal-directed paths by orbital prefrontal cortex. *J Neurosci* 31: 5989-6000
- Yu AJ, Dayan P. 2005. Uncertainty, neuromodulation, and attention. *Neuron* 46: 681-92
- Zenon A, Sidibe M, Olivier E. 2014. Pupil size variations correlate with physical effort perception. *Front Behav Neurosci* 8: 286
- Zerbi V, Floriou-Servou A, Markicevic M, Vermeiren Y, Sturman O, et al. 2019. Rapid Reconfiguration of the Functional Connectome after Chemogenetic Locus Coeruleus Activation. *Neuron* 103: 702-18 e5
- Zimmermann KS, Li CC, Rainnie DG, Ressler KJ, Gourley SL. 2018. Memory Retention Involves the Ventrolateral Orbitofrontal Cortex: Comparison with the Basolateral Amygdala. *Neuropsychopharmacology* 43: 674