



HAL
open science

Rôle de l'amygdale dans les symptômes émotionnels de la Maladie de Huntington : étude d'un modèle de rat transgénique, BACHD

Charlotte Lamirault

► **To cite this version:**

Charlotte Lamirault. Rôle de l'amygdale dans les symptômes émotionnels de la Maladie de Huntington : étude d'un modèle de rat transgénique, BACHD. Neurosciences [q-bio.NC]. Université Paris Saclay (COMUE), 2016. Français. NNT : 2016SACLS003 . tel-03096434

HAL Id: tel-03096434

<https://theses.hal.science/tel-03096434>

Submitted on 5 Jan 2021

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.

NNT : 2016SACLS003

THESE DE DOCTORAT
DE L'UNIVERSITE PARIS-SACLAY,
préparée à l'Université Paris-Saclay

ÉCOLE DOCTORALE N°568
Signalisation et réseaux intégratifs en Biologie

Science de la vie et de la santé

Par

Mme Lamirault Charlotte

**Rôle de l'Amygdale dans les symptômes émotionnels de la maladie de
Huntington : étude d'un modèle de rat transgénique, BACHD**

Thèse présentée et soutenue à Orsay, le 12 Janvier 2016

Composition du Jury :

| | | |
|---------------------------|---------------------------------|---------------------|
| Mr Gilles Bonvento | Directeur de recherche, CNRS | Examineur |
| Mr Jean-Christophe Cassel | Directeur de recherche, CNRS | Rapporteur |
| Mr Guillaume Ferreira | Chargé de recherche, CNRS | Rapporteur |
| Mme Thérèse Jay | Directrice de recherche, INSERM | Présidente |
| Mr Patrick Pla | Maitre de conférences, CNRS | Examineur |
| Mme Nicole El Massioui | Chargée de recherche, CNRS | Directrice de thèse |



*« Le propre d'une intelligence, c'est de pouvoir
poursuivre deux raisonnements à la fois : comprendre
que les choses sont désespérées et vouloir les
changer quand même. »*

Francis Scott Fitzgerald

REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à exprimer mes plus sincères remerciements au Dr Nicole El Massioui pour m'avoir accueillie au sein de l'équipe Cognition et émotion et m'avoir fait confiance pour mener à bien cette thèse : tu as su m'enseigner ton savoir-faire et me guider tout au long de ces années avec sagesse et gentillesse.

Je remercie chaleureusement les membres de mon jury : Gilles Bonvento, Jean-Christophe Cassel, Guillaume Ferreira, Thérèse Jay et Patrick Pla d'avoir accepté de juger ce travail de thèse.

Merci au Dr Valérie Doyère, avec qui j'ai eu mon premier entretien lors de ma demande de stage de M2. Si je fais partie de l'équipe c'est en partie grâce à elle : merci pour ton aide, ta sympathie et tous tes conseils aussi bien techniques (comme la programmation des boîtes de Skinner qui n'était pas mon fort au départ !) qu'intellectuels.

A Lucille (ma co-thésarde) un immense merci : tu as été un réel soutien et ces années de thèse se sont agréablement passées en partie grâce à toi (et à toutes tes pâtisseries !). Merci pour cette amitié et vivement notre voyage en Nouvelle-Zélande !

Un grand merci à toutes les personnes qui ont fait ou qui font toujours partie de l'équipe : Jeroen, Mouna, Najia, Olivier, Jacques, Marine, Manel, Tatiane et bien sûr Arnaud qui a su me supporter pendant ses 6 mois de stage et écouter tous mes petits tracas (alors que Lucille était à New York). Merci pour la bonne humeur qui régnait dans l'équipe grâce à vous tous.

Aux différentes stagiaires que j'ai pu encadrer et qui m'ont permis d'avancer plus rapidement sur certaines tâches expérimentales : Maud et Auxanne (dont le pouce s'en souvient encore !), Lisa et aussi Manel, à vous toutes merci.

A mes rats : Merci ! Et bien sûr à toutes les personnes qui en ont pris soin à un moment ou à un autre : Nathalie, Calette, Joël, Fabien, Céline et Aurélie. Encore merci à Nathalie pour son aide technique également en immuno-histochimie et au cryostat.

Merci au Dr Huu Phuc Nguyen de m'avoir accueillie à deux reprises dans son laboratoire à Tuebingen et un grand merci en particulier à Libo Yu-Taeger qui m'y a patiemment enseigné les techniques d'immunohistochimie.

Je remercie également Bruno pour ses « interventions de secours informatiques » auxquelles j'étais abonnée et qui m'ont été d'une grande aide.

Merci à Serge Laroche et Jean-Marc Edeline, qui se sont succédés à la tête du CNPS puis, à présent, du département Cognition et Comportement de Neuro-PSI, ainsi qu'à toutes les personnes qui font vivre ce laboratoire et que j'ai pu croiser dans les couloirs (aussi bien la semaine que les week-end !) ou lors de nos barbecues annuels.

Merci à Elsa, Laura et Lucille pour votre amitié depuis le M1 (5 ans déjà !) et pour toutes nos « soirées filles » entre doctorantes. A tous les doctorants du labo, merci pour les moments d'échanges intellectuels (mais pas seulement !) lors des student club ou des repas au CESFO.

Finalement, j'aimerais tout particulièrement remercier ma famille pour leur soutien sans faille et le don qu'ils ont à me donner confiance en moi.... A toi aussi, Aurélien, pour ta patience de ces derniers mois et ton amour qui me fait me sentir forte et m'endormir chaque soir sereinement... Cette thèse n'aurait jamais vu le jour sans vous, elle vous est dédiée.

TABLE DES MATIERES

| | |
|---|-----------|
| INTRODUCTION GÉNÉRALE | 13 |
| I) MALADIE DE HUNTINGTON (MH)..... | 13 |
| A) HISTOIRE DE LA MH | 13 |
| B) LES DIFFERENTES FORMES DE MH..... | 15 |
| C) ORIGINE GENETIQUE | 17 |
| 1) <i>La protéine htt</i> | 17 |
| 2) <i>Fonctions de la protéine htt</i> | 18 |
| 3) <i>Conséquences de la mutation mhht</i> | 20 |
| 4) <i>Les autres pathologies polyglutaminiques</i> | 21 |
| II) BASES NEUROBIOLOGIQUES | 23 |
| A) STRUCTURES TOUCHEES ET CINETIQUE DE LA NEURODEGENERESCENCE | 23 |
| 1) <i>Le striatum</i> | 23 |
| 2) <i>Le cortex</i> | 27 |
| 3) <i>Les autres structures cérébrales</i> | 28 |
| B) ASPECT CLINIQUE | 29 |
| 1) <i>Symptômes moteurs</i> | 30 |
| 2) <i>Symptômes cognitifs</i> | 31 |
| 3) <i>Symptômes psychiatriques</i> | 32 |
| 4) <i>Pistes thérapeutiques</i> | 34 |
| III) ÉMOTION ET AMYGDALE | 35 |
| A) GENERALITES..... | 35 |
| B) ANATOMIE ET CONNECTIVITE | 36 |
| 1) <i>Noyau basolatéral de l'amygdale (BLA)</i> | 38 |
| 2) <i>Noyau central de l'amygdale (CeA)</i> | 39 |
| C) ACTIVITE CELLULAIRE..... | 42 |
| D) FONCTIONS | 44 |
| E) LIEN ENTRE AMYGDALE ET SYMPTOMES EMOTIONNELS DE LA MH | 46 |
| IV) MODELES DE LA MH | 48 |
| A) MODELES CELLULAIRES | 48 |
| B) MODELES ANIMAUX TRANSGENIQUES..... | 49 |
| 1) <i>Souris</i> | 49 |
| 2) <i>Les autres modèles</i> | 51 |

| | |
|--|------------|
| C) MODELES RATS | 51 |
| 1) <i>TgHD</i> | 51 |
| 2) <i>BACHD</i> | 53 |
| V) OBJECTIFS DU TRAVAIL DE THESE | 55 |
| CHAPITRE 1 : CARACTÉRISATION DU PHÉNOTYPE ÉMOTIONNEL DES RATS BACHD..... | 59 |
| I) INTRODUCTION | 59 |
| II) PHENOTYPAGE DES RATS BACHD AGES DE 4 MOIS | 62 |
| A) PROCEDURES EXPERIMENTALES | 62 |
| 1) <i>Animaux</i> | 62 |
| 2) <i>Tests comportementaux</i> | 62 |
| B) RESULTATS..... | 64 |
| 1) <i>Activité et réactivité locomotrice : couloir circulaire</i> | 64 |
| 2) <i>Tonus musculaire : cintre</i> | 65 |
| 3) <i>Réactivité à la nouveauté : open field avec objet</i> | 66 |
| 4) <i>Test d'anxiété : labyrinthe en croix surélevé</i> | 67 |
| III) PHENOTYPAGE EMOTIONNEL ET COGNITIF DU MODELE BACHD EN FONCTION DE L'AGE | 69 |
| A) PROCEDURES EXPERIMENTALES | 69 |
| 1) <i>Animaux</i> | 69 |
| 2) <i>Tests comportementaux</i> | 69 |
| B) RESULTATS..... | 76 |
| 1) <i>Réactivité sensorimotrice</i> | 76 |
| 2) <i>Tests d'anxiété</i> | 78 |
| 3) <i>Conditionnement Pavlovien : aversif et appétitif</i> | 85 |
| IV) DISCUSSION | 94 |
| A) PHENOTYPE HYPO OU HYPER ANXIEUX ?..... | 94 |
| B) BASES NEUROBIOLOGIQUES DES TROUBLES EMOTIONNELS ? | 99 |
| CHAPITRE 2 : RÔLE DU NOYAU CENTRAL DE L'AMYGDALE DANS LES SYMPTÔMES ÉMOTIONNELS | 107 |
| I) INTRODUCTION | 107 |
| II) ARTICLE : Central Amygdala dysfunction in BACHD rat model of Huntington disease | 111 |
| DISCUSSION GÉNÉRALE..... | 137 |
| BIBLIOGRAPHIE..... | 143 |

LISTES DES ABREVIATIONS

BA : Noyaux basal de l'amygdale

BACHD : modèle de rat transgénique « full length » pour la Maladie de Huntington (**B**acterial **A**rtificial **C**hromosome **H**untington's **D**isease)

BDNF : Facteur de survie cellulaire (**B**rain-**D**erived **N**eurotrophic **F**actor)

BLA : Noyaux basolatéral de l'amygdale

BNST : Noyau du lit de la strie terminale

CAG : Triplet d'acides aminés codant pour la glutamine

CeA : Noyau central de l'amygdale

CeL : Noyau central latéral de l'amygdale

CeM : Noyau central médian de l'amygdale

DA : Dopamine

GABA : Neurotransmetteur acide γ -aminobutyrique

GB : Ganglions de la base

GP : Globus pallidus

GPe : Globus pallidus externe

GPI : Globus pallidus interne

HAP1 : Protéine de liaison (**H**untingtin **A**ssociated **P**rotein)

HTT : Gène Huntington

htt : Protéine huntingtine

IRM : Imagerie par résonance magnétique

ITC : Cellule intercalée

ITI : Intervalle inter-essais

KI : Knock-in

KO : Knock-out

LA : Noyaux latéral de l'amygdale

MH : Maladie de Huntington

mhtt : Protéine huntingtine mutée

mPFC : Cortex préfrontal médiant

OF : Open Field

PAG : Substance grise périaqueductale

PFC : Cortex préfrontal

PP : Prépulse

PPI : Inhibition au prépulse

Q : glutamine

RC : Réponse conditionnée

RI : Réponse inconditionnée

RO : Réponse d'orientation

SC : Stimulus conditionné

SI : Stimulus inconditionnée

SN : Substance noire

SNc : Substance noire pars compacta

SNr : Substance noire pars reticula

TgHD : modèle de rat transgénique « fragmentaire » pour la Maladie de Huntington (**Transgenic Huntington's Disease**)

WT : Wild type

INTRODUCTION GÉNÉRALE

INTRODUCTION GÉNÉRALE

I) Maladie de Huntington (MH)

A) Histoire de la MH

La maladie de Huntington ne se résume pas à une histoire, mais à une multitude de récits, de mythes, d'anecdotes, de « on-dit » ou encore d'écrits, aussi bien religieux que scientifiques. Dans ces conditions, il est difficile de retracer fidèlement toutes les étapes de sa découverte. Cependant, certaines revues comme celle de Grandmougin (Grandmougin *et al.*, 1997) ou encore celle de Vale et Cardoso (Vale & Cardoso, 2015) décrivent de façon assez détaillée son histoire.

Pour résumer, c'est autour de l'an mille que l'on retrouve les premières descriptions de symptômes proches de ceux de la MH. En Allemagne par exemple, ils sont décrits comme un besoin irrésistible de danser qui se propage telle une épidémie. À partir de là, et jusqu'au XVe siècle, d'autres épisodes de ce genre sont relatés. Ces épisodes, ou « danses maniaques », sont alors liés à deux saints : Saint Jean, probablement en référence à la danse de Salomé pour laquelle il eut la tête coupée et Saint Vitus (aussi appelé Saint Guy) qui, en 1418 à Strasbourg, aurait supplié Dieu d'épargner tout trouble moteur à ceux qui célèbreraient l'anniversaire de sa mort. Dès lors, il devint le saint référent de cette pathologie.

Le terme « chorée », qui vient du latin « chorea » et qui signifie danse en chœur, est cité pour la première fois en 1485 dans une ordonnance de la ville de Rottweil (en Allemagne) : « quiconque appelle sur un autre la malédiction de la chorée de saint Vitus devra payer une amende de 6 shillings » (Martin, 1923). Cette citation reflète parfaitement l'influence de la religion sur la société de l'époque. En effet, étant donnés leurs mouvements involontaires et leur état psychique, les danseurs étaient la plupart du temps considérés comme des possédés. Cette maladie était vue comme une malédiction diabolique ou une punition. Des exorcismes étaient alors souvent pratiqués.

Au début du XVIe siècle, Paracelse (1493–1541), un alchimiste et médecin suisse, différencie trois formes de chorée : la chorée lascive (induite par des désirs sexuels), la chorée naturelle (provenant de causes physiques ou corporelles) et la chorée imaginative (qui vient de l'imagination comme la chorée de Saint Vitus). Mais c'est grâce à la description d'une forme de chorée affectant les adolescents en 1686 par un médecin anglais nommé Thomas Sydenham que les chorées sont enfin considérées sur un plan médical. Par chorée, il définit alors des

mouvements des membres involontaires, rapides et sans but. Cependant, l'aspect religieux et diabolique de ces chorées reste très présent. C'est en 1692 qu'a lieu le massacre des « sorcières de Salem » aux États-Unis où des femmes, détestées par les villageois, furent accusées d'avoir jeté un sort aux filles du pasteur qui manifestaient des gestes désordonnés.

Au cours du XIXe siècle, nombre de travaux médicaux commencent à émerger, particulièrement en Europe. Des médecins tels qu'Étienne Michel Bouteille (Bouteille, 1810), Charles Oscar Waters et Charles Gordman (Dunghlison, 1842, 1848) ou encore Johan Christan Lund (Lund, 1860) argumentent sur le caractère héréditaire d'une forme clinique de chorée chez l'adulte. Enfin, en 1872, Georges Huntington, jeune médecin américain, publie sa thèse intitulée « On Chorea ». Sa description est si détaillée et précise qu'elle se répand rapidement à travers le monde médical et scientifique européen. Il y décrit notamment le profil clinique des patients, l'arrivée de la maladie à l'âge adulte, ainsi que le caractère autosomique, dominant et héréditaire de la pathologie (Lanska, 2010). Ce n'est que plus de cent ans après cette description, en 1983, que l'équipe de Gusella fait le lien entre cette pathologie et une mutation génétique (Gusella *et al.*, 1983). Suite à ces travaux, le gène responsable de la maladie est localisé sur le bras court du chromosome 4 (Gusella *et al.*, 1985; Landegent *et al.*, 1986; Gilliam *et al.*, 1987). Finalement, en 1993, la mutation sur le gène IT15 est identifiée : il s'agit d'un nombre anormalement élevé de répétitions du trinuécléotide CAG (qui code pour la glutamine) du côté N-terminal du gène. Ce gène est alors nommé Huntingtine (HTT) et code une protéine dont le rôle est encore inconnu à l'époque, la protéine huntingtine (htt) (The Huntington's Disease Collaborative Research Group, 1993). Dans cet article, les auteurs constatent que le nombre de répétitions du trinuécléotide CAG chez les patients est toujours égal ou supérieur à 42 et que ce nombre est corrélé à l'âge d'arrivée de la maladie, c'est-à-dire que plus le nombre de répétitions est grand, plus l'âge d'arrivée de la maladie est précoce.

Au vu de tout ce passé, on comprend mieux pourquoi cette maladie, plus que n'importe quelle autre, est considérée comme une malédiction encore aujourd'hui. Nombre de porteurs potentiels du gène refusent de se faire dépister par peur de l'issue toujours fatale de la maladie. Il est donc important que l'histoire de la MH ne cesse d'avancer afin d'apporter les connaissances nécessaires pour l'élaboration d'un traitement. Ainsi, l'espoir d'une guérison incitera davantage les personnes à risques à se faire dépister à temps, pouvant ainsi limiter la transmission de la MH à leurs descendants. D'autre part, la MH est une pathologie neurodégénérative parmi d'autres. Faire avancer la recherche sur sa compréhension aura vraisemblablement un impact positif sur toutes les autres maladies qui agissent selon le même mode d'action.

B) Les différentes formes de MH

La MH est classée comme maladie rare, car sa prévalence, c'est-à-dire le nombre total de personnes atteintes par la maladie à un moment donné, est inférieur à 1/2000. Cependant, ce nombre varie selon la zone géographique étudiée. En effet, en Europe et en Amérique du Nord, elle représente 4 à 8 personnes pour 100 000 habitants (Harper, 1992). La région du monde dans laquelle cette fréquence est la plus élevée se trouve en Écosse (Grampians) où elle atteint 9.9/100 000 (Simpson & Johnston, 1989), alors que le pays qui recense le moins de patients Huntington est la Finlande avec une prévalence de 5/1 000 000. La France, quant à elle, comptabilise environ 6000 cas, mais ce sont plus de 100 000 personnes qui sont confrontées à cette pathologie en tant que proches. Un autre chiffre à prendre en considération est l'incidence de la MH, c'est-à-dire le nombre de nouveaux cas diagnostiqués dans une population et une période donnée. Sur une année, elle est estimée à 344 sur environ 60 millions d'habitants en France (RightDiagnosis, n.d.).

Même si la MH est considérée comme maladie rare, sa pénétrance étant de 100 % (Fig. 1), tout porteur du gène développera la maladie dans le futur sauf certaines exceptions. Des familles entières sont ainsi touchées, ce qui génère beaucoup de craintes et d'appréhension. D'autre part, le coût de la prise en charge du patient, qui devient forcément non autonome, ainsi que l'issue pour l'instant fatale de cette maladie forcent à l'explorer plus encore pour enfin donner l'espoir d'un traitement et augmenter l'envie de dépistage par voie de conséquence.

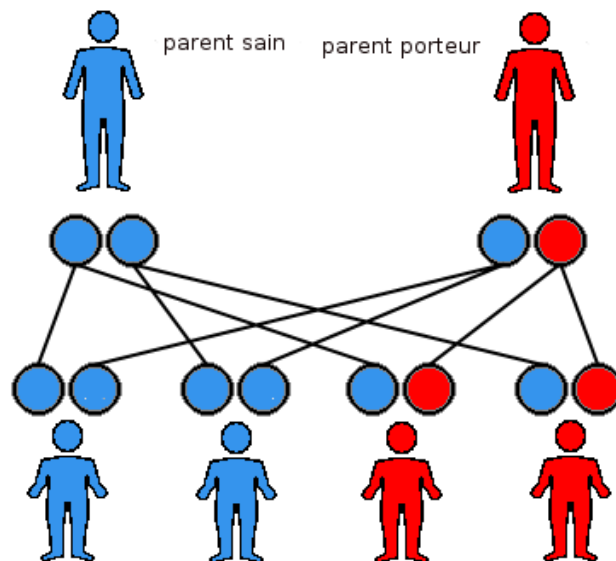


Figure 1 : Mécanisme d'action d'une maladie à transmission autosomique dominante

Si un des deux parents est porteur du gène, 50 % de leur descendance aura un risque de développer la MH.

Il existe différentes formes de la maladie. En effet, même si le stade symptomatique débute vers l'âge de 40 ans chez la majorité des patients, il existe toutefois des formes dites juvéniles (avant 21 ans) et des formes tardives (après 50 ans) de la maladie.

Avec entre 5 et 7 % des cas (Krawczak *et al.*, 1991), la forme juvénile de la MH est rare. C'est une forme foudroyante qui conduit à la mort une dizaine d'années après les premiers signes cliniques. Une baisse du niveau scolaire marque souvent l'arrivée des symptômes cognitifs et psychiatriques. Viennent ensuite des troubles que l'on retrouve dans la forme classique : irritabilité, anxiété, etc. ainsi que d'autres, comme de la schizophrénie ou des crises d'épilepsie dont la fréquence est corrélée avec l'âge de début de la maladie (Sato & Abe, 2002). La chorée est souvent peu prononcée et de courte durée, laissant place rapidement à une akinésie (difficulté à initier le mouvement et tendance à l'immobilité), une dysarthrie (rythme de parole irrégulier), une hypertonie (augmentation du tonus musculaire) et une hyper-réflexie (exagération des réflexes ostéo-tendineux). Dans ce cas, l'évolution de la MH est rapide, en particulier l'altération des fonctions cognitives. La forme tardive quant à elle touche environ 25 % des patients et se caractérise par une évolution lente. Les symptômes cognitifs et psychiatriques sont atténués, les troubles choréiques sont associés à une dysphagie (déglutition anormale) assez faible. Il est possible de voir des patients chez qui l'atteinte est purement motrice (chorée, troubles de la marche, dysarthrie), ou purement cognitive, plus rarement psychiatrique. De façon générale, l'âge d'apparition des premiers symptômes, ainsi que leur sévérité, sont positivement corrélés au nombre de répétition du codon CAG (Brinkman *et al.*, 1997).

De plus, étant une pathologie génétique autosomique dominante, la MH devrait toucher autant les hommes que les femmes. Cependant, il est admis qu'une plus grande instabilité génétique est présente chez l'homme. Ainsi, par le biais de l'anticipation paternelle (c'est-à-dire l'aggravation de la maladie au fur et à mesure de la transmission au cours des générations), la forme juvénile est transmise par le père dans 70 à 90 % des cas (De Rooij *et al.*, 1993; Kremer *et al.*, 1995). Les formes tardives seraient quant à elles plus souvent transmises par la mère (Myers *et al.*, 1983).

C) Origine génétique

1) La protéine htt

Comme dit précédemment, la protéine htt est codée par le gène HTT (IT15) présent sur le bras court du chromosome 4. C'est une grosse protéine qui comprend 3144 acides aminés (nombre basé sur une longueur de 23 répétitions de l'acide aminé Q (glutamine)) pour un poids moléculaire de 348 kDa (Fig. 2).

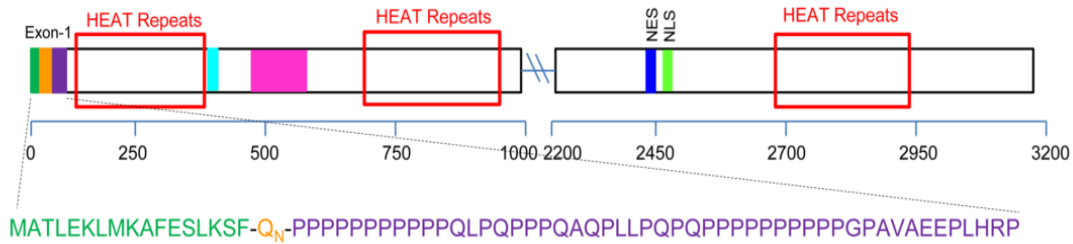


Figure 2 : Représentation schématique de la séquence protéique de la huntingtine

Le segment N-terminal de la protéine htt est tout d'abord représenté (vert foncé), puis suit une région riche en glutamine (polyQ, orange) et une autre riche en proline (violet). La protéine htt comporte aussi des clusters de séquence HEAT (cadres rouges) d'environ 40 acides aminés, impliqués dans les interactions protéine-protéine. Des sites de phosphorylation et d'acétylation (en bleu clair) sont également présents, ainsi que des régions de clivage par des caspases et des calpaïnes (en rose). Enfin, les séquences NES (nuclear export signal, bleu foncé) et NLS (nuclear localization signal, vert clair) représentent les signaux d'adressage.

D'après (Wetzel, 2012 ; Zuccato, Valenza, & Cattaneo, 2010)

Chez tous les vertébrés, au moins 4 répétitions de glutamine sont présentes et ce nombre s'accroît dans les espèces les plus « évoluées ». En effet, si la drosophile ne possède aucune répétition, la souris et le rat n'en possèdent que 7 et 8 respectivement, alors que chez l'Homme cette expansion polyglutaminique (polyQ) s'étend de 11 à 36 résidus pour un individu sain (Harjes & Wanker, 2003). Le fait que cette séquence polyQ soit peu conservée à travers les espèces indique qu'elle n'est probablement pas déterminante pour la fonction de la protéine htt.

La protéine htt est ubiquitaire, c'est-à-dire présente dans toutes les cellules de notre corps et, plus encore, dans chaque compartiment cellulaire (aussi bien le cytoplasme que le noyau). Cependant, alors que son taux est élevé dans le cerveau et les testicules, il l'est dans une moindre mesure au niveau du cœur, des poumons et du foie (Li et al., 1993 ; Strong et al., 1993 ; Trottier et al., 1995). Au niveau du cerveau et à l'échelle cellulaire, elle est localisée dans le noyau, les neurites et les terminaisons synaptiques, mais plus majoritairement dans le

cytoplasme où elle est souvent associée aux structures vésiculaires et aux microtubules (Hoffner *et al.*, 2002).

2) Fonctions de la protéine htt

Depuis sa découverte en 1993, les rôles précis de la protéine htt n'ont pas tous été identifiés. Cependant, il a été montré qu'elle interagit avec beaucoup d'autres protéines, plus de 200 protéines ont été recensées à ce jour. Les fonctions dans lesquelles elles sont impliquées sont, par exemple, le transport vésiculaire, la signalisation intracellulaire ou encore la régulation de la transcription (Harjes & Wanker, 2003).

- htt dans le développement

L'une des techniques fréquemment utilisées pour étudier le rôle d'une protéine est de générer des animaux transgéniques spécifiquement dépossédés de la protéine en question. Concernant la protéine huntingtine, les études sur des modèles murins knock-out (KO) ont montré que son absence entraînait une anomalie au cours du développement et donc une mort embryonnaire assez précoce (Duyao *et al.*, 1995; Nasir *et al.*, 1995; Zeitlin *et al.*, 1995). Pour s'affranchir de cette létalité embryonnaire, d'autres recherches se sont penchées sur la création de modèles KO conditionnels, c'est-à-dire dans lequel le gène peut être inactivé à un moment précis grâce au système Cre/Lox. Les souris sont stériles et présentent une dégénérescence neuronale importante lorsque le gène est inactivé au niveau des testicules et du cerveau au stade périnatal (Dragatsis *et al.*, 2000). Ces données suggèrent que la protéine htt est impliquée dans le processus de survie cellulaire, aussi bien pendant le développement embryonnaire qu'à l'âge adulte.

- htt dans le transport vésiculaire

Comme il a été dit plus haut, la protéine htt interagit avec un grand nombre de protéines impliquées dans le trafic vésiculaire. C'est par exemple le cas de la protéine HAP1. Ainsi, le mécanisme de transport vésiculaire dépend de l'interaction entre la protéine htt, HAP1 et la dynéine (Fig. 3) (McGuire *et al.*, 2006; Caviston *et al.*, 2007).

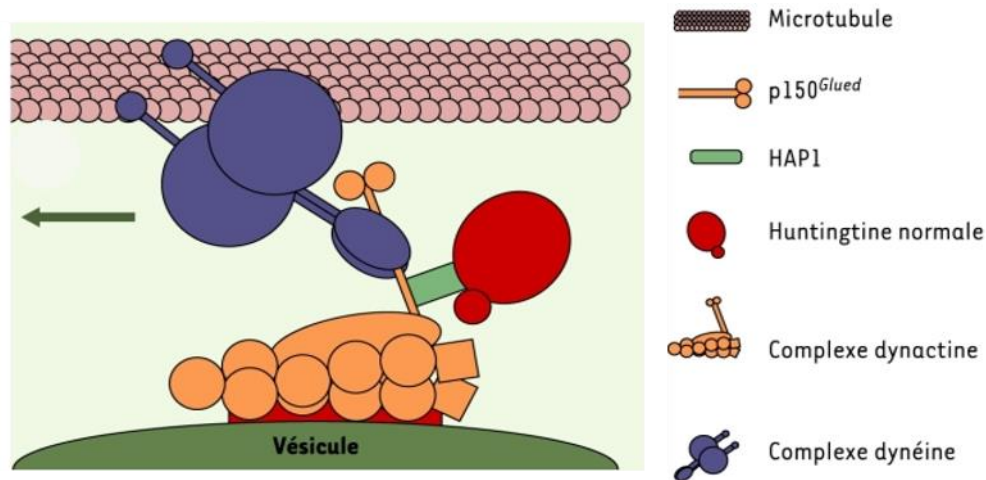


Figure 3 : Représentation schématique de la fonction de la huntingtine dans le transport vésiculaire

La protéine htt permet une meilleure interaction entre le complexe dynactine (associé à la vésicule à transporter) et le complexe dynéine (associé aux microtubules). Cette interaction se fait via la protéine HAP1 (huntingtin associated protein) et la protéine htt agit alors comme un facteur de processivité.

D'après (Humbert & Saudou, 2004).

D'autre part, il a été montré qu'une diminution de l'expression de HAP1 entraîne une inhibition du transport du BDNF (Brain-Derived Neurotrophic Factor) (Li *et al.*, 2003). Le BDNF est un facteur de survie, car il induit la croissance et la différenciation des nouveaux neurones et des synapses (Acheson *et al.*, 1995; Huang & Reichardt, 2001). Dans ce cas, il est compréhensible qu'une dérégulation dans l'acheminement de ce facteur soit catastrophique pour les cellules, et en particulier pour celles du striatum où le BDNF, sécrété par le cortex, y est endocyté (Altar *et al.*, 1997; Baquet *et al.*, 2004). Il a d'ailleurs été montré qu'une surexpression de la protéine htt augmente spécifiquement le transport du BDNF le long des microtubules (Gauthier *et al.*, 2004).

- htt dans la régulation transcriptionnelle

Selon Schulte et Littleton (Schulte & Littleton, 2011), la protéine htt joue un rôle aussi bien dans l'activation que dans l'inhibition de la transcription de certains gènes. En effet, même si sa séquence ne comporte pas de sites d'interaction directe avec l'ADN, elle joue l'interface entre facteurs de transcription et régulateurs transcriptionnels (tels que REST/NRSF (Repressor Element-1 Transcription Factor/Neuron Restrictive Factor) qui est un co-répresseur transcriptionnel, ou CBP (CREB-Binding Protein) qui est un co-activateur).

3) Conséquences de la mutation mhtt

La mutation du gène HTT a pour conséquence un changement morphologique de la protéine htt (élongation polyQ). Si de 11 à 36 répétitions du codon CAG, la protéine htt remplit ses rôles, à partir de 40, l'expansion polyglutaminique devient problématique et entraîne la MH. La « zone grise » est décrite lorsqu'un individu possède entre 36 et 39 répétitions. On parle dans leur cas de pénétrance « réduite » où certains développeront la maladie, mais tardivement et avec des symptômes moins sévères et d'autres non. Cependant, il y a un risque que ces personnes transmettent un nombre de répétitions plus important aux générations suivantes.

Tous les processus à l'origine de la MH ne sont pas connus, mais il semble qu'ils résultent aussi bien d'une perte de fonction de la protéine htt normale que d'un gain de fonction toxique de la protéine htt mutée (mhtt) (Cattaneo *et al.*, 2001; Ross, 2002).

- Perte de fonction de la protéine normale htt

Au vu des différentes fonctions énoncées précédemment, le changement de conformation de la protéine htt a un effet dramatique sur le rôle qu'elle tient dans les différentes interactions protéiques. Entre autres, cela se traduit par la perte de la capacité de la protéine htt à transporter efficacement le facteur neurotrophique BDNF, conduisant alors à une plus grande vulnérabilité des neurones (Fig. 4).

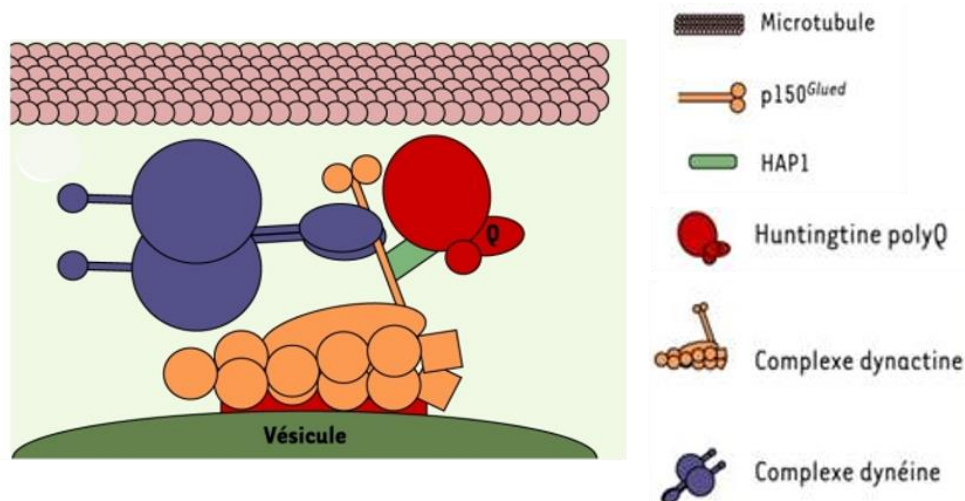


Figure 4 : Représentation schématique de la perte de fonction de la huntingtine dans le transport vésiculaire

L'élongation polyQ entraîne un défaut d'interaction entre la protéine htt et le complexe HAP1-dynactine-dynéine. La vésicule à transporter se décroche donc plus fréquemment des microtubules.

D'après (Humbert & Saudou, 2004)

- **Gain de fonction : formation des agrégats et toxicité**

Malgré une perte de fonction de la protéine htt normale, celle-ci garde tout de même certaines capacités cruciales, en particulier lors du développement. En effet, si les modèles souris KO meurent précocement, les souris exprimant uniquement le gène muté se développent normalement. Elles présentent cependant par la suite, des problèmes d'ordre neurologique laissant penser qu'une toxicité de la protéine mhht apparaît au cours du vieillissement (Van Raamsdonk *et al.*, 2005).

Chez un modèle de souris transgénique, il a été montré pour la première fois que l'une des conséquences directes de l'élongation polyglutaminique est l'apparition de sites d'agrégation de la protéine mhht dans plusieurs structures cérébrales, ces inclusions ayant été trouvées avant l'arrivée des premiers symptômes (Davies *et al.*, 1997 ; Mangiarini *et al.*, 1996). Effectivement, la protéine mhht subit une étape de clivage protéolytique qui entraîne la formation de fragments amino-terminaux qui sont transportés dans le noyau, mais que l'on retrouve également dans le cytoplasme et qui forment ces agrégats (DiFiglia, 2002). De plus, il faut noter que la protéine mhht est peu soluble dans la cellule, ce qui conduit à renforcer la formation de ces amas. Dans le noyau cellulaire, les acteurs du mécanisme de la transcription vont se trouver piégés dans les agrégats de protéine mhht. La synthèse de protéines essentielles au bon fonctionnement de la cellule est alors perturbée, amenant à la mort neuronale (Saudou *et al.*, 1998; Ross, 2002).

La toxicité de la protéine mhht serait également liée à la diminution de la production d'énergie qu'elle entraîne. Privé de cette source énergétique que lui fournit habituellement la mitochondrie, le neurone deviendrait extrêmement sensible aux neurotransmetteurs excitateurs tels que le glutamate, ce qui suffirait à le tuer. C'est le phénomène d'excitotoxicité (Beal *et al.*, 1991).

Pour compléter, la perte de fonction de la huntingtine normale, ainsi que le gain d'une fonction toxique conférée par la formation d'agrégats entraînent également, notamment au niveau du neurone, l'activation de protéases, le repliement de protéines, ainsi que l'inhibition de dégradation de certaines protéines, une dysfonction synaptique et métabolique, un stress oxydatif, etc.

4) Les autres pathologies polyglutaminiques

Il existe d'autres maladies neurodégénératives qui sont également causées par une expansion du triplet CAG anormale dans un seul gène. Actuellement, 9 ont été identifiées : la MH, l'atrophie dentato-rubro-pallido-luysienne (DRPLA), l'amyotrophie spino-bulbaire (SBMA) et

six formes d'ataxie spinocérébelleuses (SCA) (Gusella & MacDonald, 2000; Shao & Diamond, 2007).

Même si la symptomatologie et la neurobiologie de ces pathologies sont propres à chacune (probablement du fait de la différence des protéines mutées (Strong *et al.*, 1993; Cancel *et al.*, 2000; Einum *et al.*, 2001)), elles ont pour caractéristiques communes la formation de sites d'agrégations, une transmission autosomique dominante et le fait que les symptômes et l'âge d'arrivée de la maladie sont dépendants du nombre de répétitions de CAG.

En particulier, chez les patients Huntington, c'est en 1998 qu'une étude démontre la présence de ces inclusions neuronales intranucléaires dans des cerveaux post-mortem. Les auteurs y montrent bien une corrélation positive entre le nombre de répétitions du triplet CAG et la quantité de ces inclusions (Becher *et al.*, 1998).

II) Bases neurobiologiques

Les études des modèles murins de maladies par expansion de CAG ont montré que le processus physiopathologique débute avant tout par un dysfonctionnement neuronal et culmine avec la disparition des neurones. Cette neurodégénérescence est relativement bien suivie grâce aux diverses techniques d'imagerie qui ont été mises en place ces 3 dernières décennies. L'IRM anatomique (imagerie par résonance magnétique) permet de mesurer le volume des différentes structures cérébrales et donc leur niveau d'atrophie. L'IRM fonctionnelle et la TEP (tomographie par émission de positron) sont utilisées pour étudier l'atteinte fonctionnelle au fur et à mesure de la progression de la MH. Ainsi, les études de neuropathologie des patients MH confirment que les altérations cérébrales précèdent de façon évidente les symptômes. La perte neuronale se propage progressivement jusqu'à atteindre une diminution de 40 % du poids total du cerveau dans les cas avancés de MH (Sharp & Ross, 1996; Halliday *et al.*, 1998; Gomez-Tortosa *et al.*, 2001).

A) Structures touchées et cinétique de la neurodégénérescence

1) Le striatum

Le striatum, et avec lui, le noyau sous-thalamique, le globus pallidus (segment externe (GPe) et segment interne (GPi)) et la substance noire (pars compacta (SNc) et pars reticulata (SNr)) forment ce qu'on appelle les ganglions de la base (GB) (Smith *et al.*, 1998). Les afférences principales de ces ganglions proviennent de l'ensemble du cortex et du thalamus, structures sur lesquelles ils projettent en retour ainsi que sur le tronc cérébral. L'ensemble de ces GB forme un complexe sophistiqué dont les différents réseaux neuronaux participent aux fonctions motrices, cognitives et limbiques. Pour ce faire, la présence de neurotransmetteurs (excitateurs et inhibiteurs) permet une régulation adaptée des différents réseaux. Ainsi, le noyau sous-thalamique possède des neurones excitateurs libérant du glutamate, la SNc quant à elle, possède également des neurones excitateurs, mais qui libèrent de la dopamine (DA). Les autres structures des GB sont inhibitrices et ont pour neurotransmetteurs le GABA (acide γ -aminobutyrique, qui est le neurotransmetteur inhibiteur principal du système nerveux central).

Concernant plus particulièrement le striatum, il peut se décomposer en deux parties anatomiques : le noyau caudé et le putamen. Les neurones épineux de taille moyenne en sont

les neurones majoritaires (90 à 95 % de sa population neuronale) (Fig. 5) et 3 neuropeptides spécifiques y sont synthétisés : la dynorphine, l'enképhaline et la substance P. Le striatum est la voie d'entrée principale des GB, le noyau sous-thalamique en étant la seconde. Ainsi, lorsqu'il reçoit les influx excitateurs des aires corticales, les neurones GABAergiques striataux s'activent pour inhiber les structures cibles sur lesquelles ils projettent comme le globus pallidus et la SNr. La deuxième population de neurones présente dans le striatum est constituée d'interneurones qui sont morphologiquement et neurochimiquement hétérogènes (grands interneurones cholinergiques et interneurones GABAergiques à décharge rapide). Ces interneurones permettent ainsi de moduler l'activité des neurones épineux (Cicchetti *et al.*, 2000).

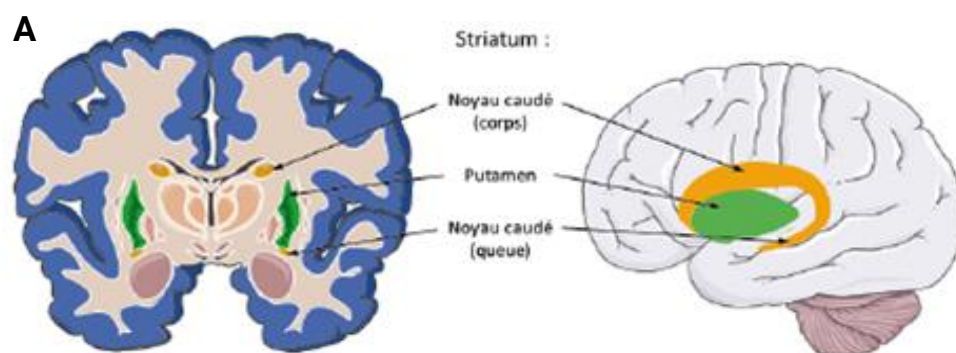


Figure 5 : Le striatum

A. Représentation d'une coupe frontale (à gauche) et latérale (à droite) où sont schématisés le noyau caudé (en orange) et le putamen (en vert).

B. Photographie d'un neurone épineux de taille moyenne du striatum.

<http://www.usc.edu/dept-00/dept/gero/faculty/Walsh/walshHP.shtml>

Il existe deux voies majeures par lesquelles les informations corticales traversent les GB puis atteignent enfin les structures cibles au niveau cortical pour l'exécution des mouvements : une voie directe et une voie indirecte (Albin *et al.*, 1989; Alexander & Crutcher, 1990; DeLong, 1990; Parent & Hazrati, 1993; Smith *et al.*, 1998). La voie directe est constituée des neurones épineux GABAergiques contenant la substance P et la dynorphine comme neuropeptides. Ces neurones possèdent également spécifiquement des récepteurs dopaminergiques de type D1 et proviennent du striatum pour projeter sur le GPi et sur la SNr. La voie indirecte est celle qui, provenant toujours du striatum, mais contenant l'enképhaline comme neuropeptide et exprimant spécifiquement les récepteurs dopaminergiques de type D2, projette sur le GPe, puis

envoie des projections inhibitrices sur le noyau sous-thalamique. Ce noyau projette ensuite des afférences excitatrices sur la SNr et le GPi. Ces deux voies ont donc pour cible le GPi qui envoie des projections inhibitrices sur le thalamus ventral. Finalement, le thalamus envoie des afférences excitatrices sur le cortex moteur (Mehler, 1971; Faull & Mehler, 1978; Kayahara & Nakano, 1996).

Ces boucles forment ce qu'on appelle le circuit cortico-striato-pallido-thalamo-cortical et permettent un contrôle fin des mouvements. Pour cela, les deux voies ont des effets opposés. En effet, la voie directe induit une réduction de l'activité du GPi et de la SNr, ce qui provoque une désinhibition du thalamus ventral et, en conséquence, du cortex moteur. L'activation de la voie directe a donc pour conséquence une facilitation des mouvements. Au contraire, l'activation de la voie indirecte entraîne une inhibition du cortex moteur, via l'excitation du GPi et de la SNr, et une diminution des mouvements. Le striatum joue ainsi un rôle primordial dans la modulation et la régulation de l'exécution des mouvements. Cependant, une troisième voie a ensuite été décrite : la voie « hyper-directe » où l'influx excitateur du cortex va directement activer le noyau sous-thalamique afin que celui-ci active à son tour le GPi, ce qui provoque une inhibition du thalamus et du cortex moteur, et donc une réduction des mouvements, sans même passer par le striatum (Nambu *et al.*, 2002).

D'un point de vue fonctionnel, les ganglions de la base peuvent être subdivisés en trois territoires distincts : le territoire somatomoteur, le territoire associatif et le territoire limbique (Parent, 1990; Francois *et al.*, 2004; Grabli *et al.*, 2004; Temel *et al.*, 2005). Dans le striatum, la partie somatomotrice est située dans le putamen (partie latérale du striatum) où elle reçoit les projections des aires corticales motrices. Elle est ainsi organisée de façon somatotopique avec trois bandes représentant la jambe, le bras et la face (de la plus médiane à la plus latérale). La partie associative, quant à elle, reçoit des afférences du cortex frontal, pariétal, temporal et occipital et est surtout localisée au niveau du noyau caudé. Elle est davantage impliquée dans le contrôle d'actions motrices complexes (via le traitement des informations cognitives). Enfin, la partie limbique se situe au niveau de la partie médiane du striatum dorsal et ventral (comprenant le noyau accumbens) et reçoit des afférences des aires limbiques telles que l'amygdale, l'hippocampe et le cortex entorhinal. Cette partie est donc préférentiellement liée au contexte émotionnel et motivationnel dans lequel est exécuté le mouvement.

Dans le cas de la MH, le striatum a été l'une des premières structures identifiées comme atrophiées dans les cerveaux de patients post-mortem (De la Monte *et al.*, 1988; Aylward *et al.*, 1997; Vonsattel & DiFiglia, 1998; Vonsattel *et al.*, 2008). Cette atrophie du striatum est visible notamment par l'élargissement des ventricules latéraux (Fig. 6). Dans l'étude de Vonsattel et

DiFiglia en 1998, cette neurodégénérescence est décrite comme suivant une distribution topographique et progressive. En effet, à un stade précoce, la neurodégénérescence touche plus particulièrement la queue et le corps du noyau caudé que la tête. Puis, cette neurodégénérescence progresse au putamen, également de la queue vers la tête et de façon simultanée dans les directions dorso-ventrales et médio-latérales. De façon logique, il existe une forte corrélation entre les fonctions des structures cérébrales touchées et l'arrivée des symptômes de la MH. D'après Harris et ses collaborateurs (Harris *et al.*, 1996), l'altération du noyau caudé serait associée à l'apparition des premiers symptômes cognitifs et affectifs (dysfonctions exécutives, troubles attentionnels et troubles émotionnels), puisque cette altération touche les territoires associatif et limbique. Puis, la dégénérescence du putamen, territoire somatomoteur, entraînerait l'altération des comportements moteurs. Cependant, selon Habib, il est possible qu'un lien existe entre le système associatif, limbique et somatomoteur permettant ainsi au contexte motivationnel de donner une impulsion cruciale pour l'initiation et le maintien de l'action (Habib, 2006). D'ailleurs, une étude d'imagerie montre l'implication spécifique du putamen dans le processus motivationnel (motivation à apprendre dans un cadre scolaire et motivation dans une tâche où les sujets gagnent de l'argent) (Mizuno *et al.*, 2008).

Plus précisément, au niveau cellulaire, ce sont les neurones épineux de taille moyenne qui sont les premiers à être touchés par le processus neurodégénératif (Vonsattel *et al.*, 1985; Rosas *et al.*, 2003; Guo *et al.*, 2012). De plus, au sein de cette population de neurones, ceux exprimant les récepteurs D2 et l'enképhaline comme neuropeptide, c'est-à-dire les neurones de la voie indirecte, semblent plus vulnérables encore que ceux de la voie directe (Reiner *et al.*, 1988; Albin *et al.*, 1992; Augood *et al.*, 1996; Deng *et al.*, 2004). C'est donc l'altération de ces voies neuronales qui est à l'origine des troubles moteurs, tels que l'hyperkinésie, l'hypokinésie ou les mouvements dyskinétiques. D'autre part, il a été souligné une diminution de la liaison des neurotransmetteurs à leur récepteur respectif : le récepteur NMDA, GABA-A et cannabinoïde au niveau du striatum de patients MH (Whitehouse *et al.*, 1985; Young *et al.*, 1988; Glass *et al.*, 2000; Tippett *et al.*, 2007). La diminution de liaison aux récepteurs est principalement due à la perte des neurones les exprimant spécifiquement, mais elle peut aussi refléter un dysfonctionnement ou un défaut de régulation de ces récepteurs (Waldvogel *et al.*, 2014). Plusieurs hypothèses quant à l'atteinte spécifique de ces neurones épineux de taille moyenne ont été émises. L'une d'elles incrimine l'excitotoxicité, expliquée plus haut, induite par l'innervation glutamatergique du cortex sur le striatum (Beal *et al.*, 1991). Une seconde explique que la morphologie particulière de ces neurones, de par leurs axones très longs et leurs contenus biochimiques

(neurotransmetteur GABA et neuropeptides spécifiques), serait une des origines de la sélectivité de la neurodégénérescence (Cicchetti *et al.*, 2000; Deng *et al.*, 2004).

Dans la MH, le striatum n'est cependant pas le seul à être atteint. En effet, la neurodégénérescence s'étend ensuite aux structures fortement liées au striatum et donc particulièrement au globus pallidus et à la substance noire (où les neurones épineux de taille moyenne projettent), puis à l'ensemble des ganglions de la base.

2) Le cortex

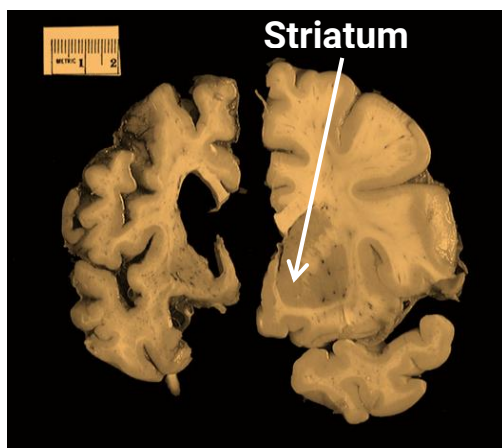


Figure 6 : Photographie de coupes frontales de demi-cerveaux post-mortem d'un individu sain (à droite) et d'un patient MH (à gauche)

L'atrophie du striatum est visible (élargissement du ventricule latéral) ainsi que la diminution du volume total du cerveau (atrophie corticale).

<http://www.brainbank.mclean.org/about/tour/slideview.php?page=41#slide>

Comme le montre la figure 6, l'élargissement des sillons ainsi que l'amincissement du ruban cortical et de la substance blanche témoignent de la perte neuronale au niveau cortical (Sotrel *et al.*, 1991). Les études d'imageries montrent que cet amincissement cortical est lié à la perte des afférences striatales (Wolf *et al.*, 2008), ainsi qu'à la progression de la pathologie et à la longueur de l'expansion polyQ (Kassubek *et al.*, 2004; Jech *et al.*, 2007). Cette neurodégénérescence apparaît progressivement, plus lentement que dans le striatum et de façon non homogène selon les différentes aires corticales (Vonsattel *et al.*, 1985; Cudkowicz & Kowall, 1990; Selemon *et al.*, 2004).

La perte neuronale touche particulièrement les cellules pyramidales du lobe pariétal (Macdonald *et al.*, 1997). D'autre part, des agrégats ont été trouvés dès le stade pré-symptomatique dans la couche VI du cortex et se propagent ensuite jusque dans la couche V (Hedreen *et al.*, 1991; DiFiglia *et al.*, 1997). Afin de compenser la perte neuronale de cette couche V, les cellules pyramidales ont développé une densité dendritique bien plus importante que dans des conditions normales (Sotrel *et al.*, 1993).

La neurodégénérescence du cortex semble plutôt liée aux symptômes non choréiformes de la MH (Hedreen *et al.*, 1991). En effet, grâce aux techniques comme l'IRM fonctionnelle ou la TEP, des corrélations ont été établies entre, d'une part, les pertes de mémoire et une réduction du débit sanguin dans le cortex préfrontal et fronto-temporal, et d'autre part, entre des déficits de la mémoire épisodique, de l'attention, du raisonnement ou encore des capacités oculomotrices et une baisse du métabolisme du glucose dans le cortex frontal pariétal et occipital (Cabeza & Nyberg, 2000). D'autres études ont également montré un lien entre une diminution du volume du cortex cingulaire rostral et un haut niveau de dépression (Hobbs *et al.*, 2011). Finalement, quasiment toutes les régions du cortex semblent être touchées, car même des régions telles que le cortex préfrontal dorso-latéral, le cortex orbito-frontal et l'insula présentent une réduction de leur volume (Ille *et al.*, 2011).

3) Les autres structures cérébrales

Le striatum, les autres ganglions de la base et le cortex représentent une grande partie du cerveau. Il est donc logique que leurs altérations conduisent aux divers symptômes observables dans la MH. Cependant, ces derniers ne sont pas tous compris et en particulier les symptômes psychiatriques. Il semblerait que d'autres structures encore soient atteintes.

L'hippocampe, par exemple, qui est la structure phare de la mémoire, aurait un volume réduit chez des individus ayant de sévères troubles dépressifs ainsi que chez les patients MH. D'autre part, l'atteinte neurodégénérative semble également toucher les structures telles que le thalamus et l'hypothalamus, le noyau accumbens, le cervelet et l'amygdale (Rodda, 1981; Kremer *et al.*, 1990; Wakai *et al.*, 1993; Hedreen & Folstein, 1995; Rosas *et al.*, 2003; Petrasch-Parwez *et al.*, 2007; Dogan *et al.*, 2014). Plus récemment, de nouvelles techniques d'imagerie fonctionnelles chez des patients MH ont permis de constater très précocement des défauts de certains marqueurs métaboliques, ou de récepteurs de neurotransmetteurs, qui seraient prédicteurs d'atrophie. Par exemple, Ciarmiello et collaborateurs suggèrent qu'une réduction du métabolisme du glucose (observée dans leur cas au niveau du noyau caudé) précède le phénomène d'atrophie (Ciarmiello *et al.*, 2012). Toujours au niveau striatal, il a également été montré une diminution des récepteurs dopaminergiques de type D1 et D2 chez des patients MH dès le stade pré-symptomatique (Ginovart *et al.*, 1997; Pavese *et al.*, 2003). L'étude de Matusch, quant à elle, montre une diminution précoce de la liaison au récepteur de l'adénosine (A1AR) (connue pour son effet cellulaire protecteur dans des conditions pathologiques telles que l'excitotoxicité, l'hypoxie ou l'inflammation), particulièrement dans l'amygdale gauche, le gyrus de Heschl (un gyrus du lobe temporal) et dans le thalamus. En comparaison, la diminution de A1AR au niveau du striatum arrive plus tardivement (Matusch *et al.*, 2014).

D'un point de vue cinétique, il est en général considéré que le grade de neurodégénérescence du striatum (mis en place par Vonstattel (1985) et allant de 0 à 4 en fonction du niveau d'atrophie du striatum) est corrélé avec l'atrophie des autres structures. En effet, jusqu'au grade 2, les autres structures apparaissent comme « normales », ou avec une atrophie très légère, cependant aux stades 3 ou 4, ces structures ont un volume significativement plus réduit (Waldvogel *et al.*, 2014). Finalement, à un stade tardif de la maladie, il a été rapporté des pertes de volume de l'ordre de 60 % dans le striatum, 55 % dans le globus pallidus, 30 % dans le thalamus, 20 % dans le cortex, 30 % dans la substance blanche et 24 % dans l'amygdale (Lange *et al.*, 1976; Heinsen *et al.*, 1994; Rosas *et al.*, 2003).

Si ces données nous indiquent que la quasi-totalité du cerveau est altérée par la MH, que ce soit le cortex, les ganglions de la base ou encore le système limbique, elles nous montrent aussi que la neuropathologie de la MH est en permanence remise en question et réévaluée. De plus, elle est très hétérogène et variable d'un patient à l'autre. Ceci est à l'origine de la variabilité des symptômes, de leur sévérité et de leur émergence. Les bases neurobiologiques qui sous-tendent les troubles d'ordre psychiatrique et émotionnel, quant à elles, sont encore très mal comprises, contrairement aux symptômes moteurs qui ont été davantage étudiés. C'est pourquoi il a été intéressant de mener des travaux de thèse dans cette direction.

B) Aspect clinique

Selon les cliniciens, l'âge d'arrivée de la maladie est défini par l'apparition des premiers signes de troubles moteurs, c'est le stade symptomatique. D'après l'étude de Myers, c'est en moyenne vers 40 ans que la maladie se déclare (Fig. 7) (Myers, 2004).

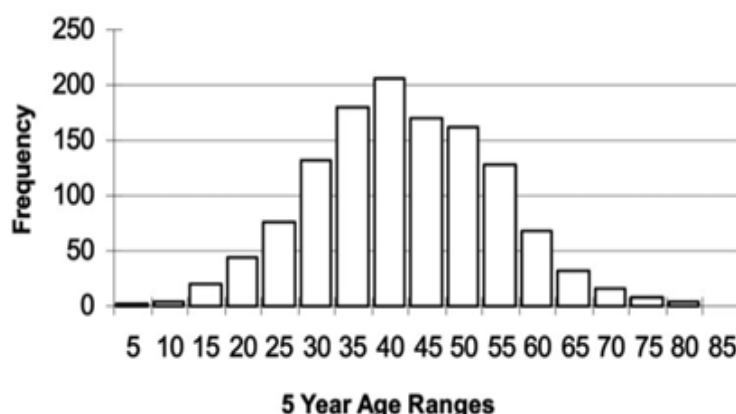


Figure 7 : Représentation graphique de la distribution du nombre de patients MH en fonction de l'âge d'arrivée des premiers symptômes moteurs.

La distribution s'étend de 5 à 85 ans avec un pic autour de 40 ans.

D'après Myers, 2004.

C'est une maladie non curative qui conduit au décès du patient environ vingt ans après que le stade symptomatique soit déclaré. Comme dit précédemment, cette maladie était autrefois appelée « Chorée de Huntington » ou encore « Danse de Saint-Guy », mais elle est à présent nommée Maladie de Huntington, car au-delà des symptômes moteurs, des symptômes cognitifs et psychiatriques apparaissent plus précocement. La maladie se caractérise donc bien par une triade de symptômes : psychiatriques, cognitifs et moteurs. Ces troubles apparaissent de façon extrêmement variable d'un individu à l'autre. Il n'est donc pas aisé de tous les référencer, décrire et classier comme symptôme dépendant de la MH. De nombreuses études ont tout de même été menées dans ce but ; Novak et Tabrizi les ont résumés dans leur revue (Novak & Tabrizi, 2011).

1) Symptômes moteurs

Le principal et le plus connu des symptômes moteurs est la chorée. Selon la World Federation of Neurology, elle est définie comme une « succession de mouvements spontanés excessifs, abrupts, imprévisibles et irréguliers ». Au départ, ce ne sont que des petits mouvements subtils comme des tapotages de doigts, des haussements de sourcils ou des clignements dont les patients n'ont même pas conscience (Snowden *et al.*, 1998). L'état de fatigue et de stress du malade ainsi que ses émotions influent énormément sur l'importance de ces mouvements choréiques. Plus tard, la chorée se manifeste sur tout le corps, y compris les muscles respiratoires. Il devient alors de plus en plus difficile pour le malade de respirer correctement (dyspnée), de parler avec un rythme régulier (dysarthrie) ou encore de déglutir normalement (dysphagie).

Associé à la chorée, une baisse du tonus musculaire (hypotonie) est souvent visible au départ de la maladie. Ensuite, signe d'une altération du striatum, viennent des anomalies posturales et une rigidité du corps entier de plus en plus importante. Les mouvements choréiques deviennent plus amples et plus fréquents, puis ils se stabilisent et peuvent même décliner légèrement pour faire place à d'autres troubles comme des contractions toniques des muscles agonistes et antagonistes simultanément (dystonie), un ralentissement des gestes (bradykinésie) et des troubles oculomoteurs (Hefter *et al.*, 1987; Louis *et al.*, 2000).

Malheureusement, cette liste de symptômes n'est pas exhaustive. On observe également une incapacité à maintenir une position fixe (impersistence motrice), des tremblements, une exagération des réflexes ostéo-tendineux (hyper-réflexie), une absence de mouvement en phase terminale, une atteinte des mouvements volontaires fins, une perte de poids constante (hypercatabolisme) pouvant aller jusqu'à la cachexie, etc. Tous les gestes de la vie quotidienne deviennent alors laborieux, la marche est difficile (trouble de la coordination : ataxie) et les

chutes sont fréquentes. Le patient perd peu à peu son autonomie et le placement dans un établissement spécialisé devient nécessaire.

Les causes du décès sont, la plupart du temps, dues aux complications qu'entraînent les différents symptômes : la pneumonie (45 %), les maladies cardiovasculaires (25 %) et la cachexie (11 %) sont les plus fréquentes (Lanska *et al.*, 1986; Sørensen & Fenger, 1992).

2) Symptômes cognitifs

Les symptômes cognitifs apparaissent discrètement et de façon progressive jusqu'au stade le plus avancé de démence. Encore une fois, ces symptômes sont très variables d'un individu à l'autre aussi bien du point de vue de la sévérité que de la date d'arrivée du symptôme.

L'un des troubles les plus communs est celui affectant les fonctions exécutives (Snowden *et al.*, 2003). Par fonctions exécutives, on définit les processus nécessaires à la réalisation de tâches complexes permettant un comportement flexible et adapté au contexte, c'est-à-dire l'analyse, le maintien en mémoire à court terme et le traitement séquentiel des informations, l'élaboration d'un plan fondé sur une stratégie autogénérée, la capacité à changer de plan en fonction des modifications des messages environnementaux, l'inhibition des réponses non pertinentes liées à des stimuli interférents ou distracteurs, le maintien du programme de réponse jusqu'à sa réalisation complète. Typiquement, un syndrome dysexécutif se traduit par des difficultés de concentration et de réalisation de plusieurs tâches simultanément, mais aussi par des difficultés dans l'organisation et la planification du temps et des activités de la vie quotidienne, de changement de règle, etc. La tendance à la persévération, ainsi que la difficulté à être flexible, fait également partie des troubles que l'on rencontre chez les patients MH (Watkins *et al.*, 2000). Ces altérations, souvent d'origine frontale, se traduisent par des difficultés pour les patients à détourner leur attention alors qu'ils sont focalisés sur une tâche quelconque ; il leur est plus difficile de s'adapter à un changement de règle que des individus sains (Aron *et al.*, 2003).

Cependant, les processus les plus souvent atteints dans la MH restent ceux de l'apprentissage et de la mémorisation. Effectivement, même si les patients déploient des stratégies mnémotechniques, ce qui distingue d'ailleurs les patients MH de ceux atteints par d'autres types de démences amnésiques comme la maladie d'Alzheimer ou le syndrome de Korsakoff (Brandt, 1991), ils éprouvent toutefois des difficultés à mémoriser de nouvelles informations. D'autre part, leurs souvenirs s'estompent progressivement et finalement, ce sont aussi bien les mémoires à court terme, à long terme, autobiographiques, procédurales et de

travail qui sont altérées (Montoya *et al.*, 2006). C'est alors les trois étapes du processus mnésique qui sont touchées dans la MH : encodage, stockage et récupération.

Enfin, d'autres troubles comme la perception visuo-spatiale peuvent également être détectés (Paulsen *et al.*, 2008). Lors d'exercices, comme le classement d'image, des difficultés dans l'organisation des informations spatiales sont fréquentes chez les patients : difficultés de perception et de jugement des relations spatiales, de détection de différences entre deux images, ou encore, d'orientation ou de copie de dessins.

Au stade le plus avancé de la maladie, toutes les fonctions cognitives sont altérées. On parle alors de démence sévère de type sous-corticale, c'est-à-dire touchant les structures telles que la substance blanche, les ganglions de la base, le thalamus et l'hypothalamus (Novak & Tabrizi, 2011).

3) Symptômes psychiatriques

Les troubles d'ordre émotionnels et psychiatriques sont les plus complexes à détecter, ils débutent discrètement et souvent avant le stade symptomatique, tout comme les symptômes cognitifs. Ces symptômes peuvent aller jusqu'à un total changement de personnalité. Pour beaucoup de patients et surtout leur famille, ces troubles font partie des aspects les plus éprouvants de la maladie. Ce sont des symptômes qui vont de légers à graves et qui seraient indépendants des aspects cognitifs et moteurs de la maladie (Paulsen *et al.*, 2001). En effet, l'une des caractéristiques qui rend difficile l'étude des symptômes psychiatriques est que, contrairement aux troubles moteurs et cognitifs qui vont en s'aggravant au fur et à mesure de la progression de la MH, certains troubles comme la dépression ou l'anxiété peuvent apparaître seulement épisodiquement, bien que souvent précocement, pour ensuite s'estomper dans certains cas (Craufurd *et al.*, 2001).

Avec environ 40 % des patients touchés, la dépression est l'une des manifestations les plus fréquentes des troubles psychiatriques (Folstein *et al.*, 1983). Même s'il est parfois difficile de différencier l'état dépressif associé à l'annonce de la maladie de celui symptomatique dépendant de la MH, l'étude de Paulsen et son équipe (Paulsen *et al.*, 2005) montre que 40 % des patients MH (sur une cohorte de 2835 patients) présentent des symptômes de dépression, 50 % d'entre eux ayant déjà été traités pour dépression dans le passé et 10 % d'entre eux ayant fait une tentative de suicide. En effet, le taux de suicide est élevé chez les patients (environ 5 à 10 fois plus que dans la population générale). Il est possible que cette tendance au suicide ne soit pas seulement liée à un état dépressif sévère, mais aussi à une impulsivité caractéristique de la MH. Ces idées suicidaires ainsi que le passage à l'acte peuvent effectivement survenir à

n'importe quel moment de la maladie y compris au stade pré-symptomatique (Craufurd *et al.*, 2001).

Un second trouble psychiatrique que manifestent majoritairement les patients est l'apathie : plus de 50 % des malades (Craufurd *et al.*, 2001). L'absence de tristesse et de pessimisme différencie l'apathie de la dépression. Cela se traduit plutôt par de l'indifférence, que ce soit envers soi-même ou autrui et par un manque d'initiative et d'intérêt pour les activités habituelles.

En affectant environ la moitié des malades, l'irritabilité fait également partie des symptômes psychiatriques les plus répandus (Craufurd *et al.*, 2001). Dans certains cas, cette irritabilité tend à de l'agressivité envers le patient lui-même ou envers sa famille.

Des déficits de reconnaissance des émotions faciales ont souvent été détectés chez le patient MH. Dans les rapports sociaux, savoir reconnaître les émotions est essentiel et permet de ressentir de l'empathie pour autrui (Lopes *et al.*, 2005). L'étude de Sprengelmeyer est l'une des premières à montrer un tel déficit notamment dans les émotions négatives telles que la peur, la colère et le dégoût (Sprengelmeyer *et al.*, 1996). Ensuite, d'autres études ont confirmé cette altération, et particulier celui de la reconnaissance du dégoût, aussi bien chez des patients symptomatiques que pré-symptomatique (Sprengelmeyer *et al.*, 1996, 2006; Montoya *et al.*, 2006; Dogan *et al.*, 2014). De plus, une autre étude a montré que le déficit de reconnaissance des émotions touche également celles à valence positive comme la joie à un stade présymptomatique (Robotham *et al.*, 2011). Selon la théorie de simulation, la reconnaissance des émotions est induite par la simulation de ces émotions, ainsi ce déficit de reconnaissance des patients MH reflète leur incapacité à ressentir et à exprimer ces émotions (Adolphs, 2002; Goldman & Sripada, 2005).

Il existe d'autres troubles encore, comme les psychoses, les hallucinations (Rosenblatt & Leroi, 2000; Paulsen *et al.*, 2001), la vulnérabilité aux addictions (tabac, alcool, drogues, excitants...), les troubles des conduites sexuelles, de la prise alimentaire, les états maniaco-dépressifs ou encore les troubles obsessionnels compulsifs (envers les autres comme la suspicion d'infidélité, ou via des comportements ritualisés) (van Duijn *et al.*, 2007). Même si ces symptômes sont plus rares, ils sont tout de même très supérieurs à ceux de la population générale et entrent dans la liste des symptômes psychiatriques de la MH. Cependant, même si ces données sont nombreuses, les dysfonctionnements émotionnels et leurs régulations restent encore mal caractérisés dans la MH.

4) Pistes thérapeutiques

À ce jour, malheureusement, il n'existe pas encore de traitement curatif pour la MH. Seuls des médicaments sont prescrits pour diminuer l'intensité de certains symptômes et ainsi améliorer quelque peu la qualité de vie du patient. En effet, des neuroleptiques sont administrés afin d'atténuer les mouvements choréiques, des antidépresseurs sont également souvent prescrits pour les symptômes dépressifs ou encore certains psychotropes dans le but de réguler les troubles de l'anxiété, du sommeil ou de l'humeur.

La prise en charge joue également un rôle important pour le bien-être du malade et de sa famille, car chaque cas est unique et mérite des soins qui lui sont particulièrement adaptés. Elle concerne entre autres un suivi neurologique, pour adapter les soins au fur et à mesure de l'évolution de la maladie ; un suivi psychiatrique, pour évaluer le mal-être du malade et de sa famille et, ainsi, chercher des solutions et des aménagements pour les soulager ; un suivi orthophonique, pour ralentir les symptômes de diction et de déglutition ; un suivi kinésithérapique, pour les troubles moteurs ; un suivi diététique, pour les troubles de dysphagie et pour éviter la cachexie ; etc.

Malgré tout, la recherche ne cesse d'avancer pour trouver de nouvelles voies thérapeutiques. Par exemple, l'équipe de Biologie et Pathologie Neuronale, à l'Institut de Biologie Paris-Seine (mais aussi en réseau avec l'Euro-HD (EHDN), le DHU « Fight Aging and Stress » de l'AP-HP, l'EIT/KIC « Health » et l'INSERM (LIA Longévité Neuronale)), ont récemment mis en évidence que les neurones des patients MH sont moins résistants au stress cellulaire que la normale, et ce, bien avant l'apparition des premiers symptômes de la MH. Restaurer cette capacité de résistance face au stress pourrait être une piste intéressante pour lutter précocement contre cette pathologie.

D'autres voies, comme la thérapie génique, sont également en cours de recherche. Le but étant d'agir bien avant le développement de la maladie, via des techniques de neuro-protection ou encore de réparation cellulaire. En particulier, l'inhibition de la production de la protéine htt grâce à de l'ARN anti-sens serait prometteur (Kordasiewicz *et al.*, 2012).

Pour cette pathologie, les enjeux de la recherche sont donc importants : mieux comprendre la MH et ses mécanismes d'action favoriserait l'ouverture de nouvelles pistes thérapeutiques.

III) Émotion et amygdale

A) Généralités

L'émotion est le processus par lequel un individu, ou un animal va interpréter les stimuli de son environnement, qu'ils soient positifs ou négatifs, afin de répondre correctement aux besoins dont dépend sa survie (nourriture, défense et reproduction). Souvent, les réponses comportementales sont le reflet d'un état émotionnel particulier induit par des réactions d'ordre biochimique et motivationnel. Selon Darwin, les émotions humaines peuvent être comprises en analysant les expressions comportementales des émotions animales et elles auraient donc pour substrat un circuit neuronal primitif et fondamental. En 1888, Brown et Schäfer mettent en évidence l'implication du lobe temporal médian dans le processus émotionnel (Brown & Schafer, 1888). Plus tard, Klüver et Bucy confirment l'engagement de ce circuit en le lésant chez le singe. Cette altération a eu pour conséquence comportementale une diminution de l'agressivité et de la peur, mais aussi une altération des comportements alimentaires et sexuels des animaux (Klüver & Bucy, 1939).

Plus spécifiquement, le « syndrome de Klüver-Bucy » est ensuite décrit lorsque les lésions sont limitées à l'amygdale, attestant ainsi que celle-ci joue un rôle-clé dans le mécanisme émotionnel (Weiskrantz, 1956). En effet, même ainsi restreinte, la lésion de l'amygdale entraîne malgré tout d'importantes altérations comme le fait qu'un stimulus, normalement attaché à une signification émotionnelle, n'induit plus la réponse comportementale adaptée. C'est en 1956 que Weiskrantz et collaborateurs ont mis en évidence ce dernier point en lésant l'amygdale chez le singe et en comparant les effets de cette altération avec des animaux n'ayant aucune lésion sur un test de conditionnement pavlovien.

Le conditionnement pavlovien a été inventé au début du XXe siècle par, comme son nom l'indique, Ivan Pavlov (1927). Ce chercheur, qui effectuait une étude sur la salivation du chien, s'est aperçu que le chien ne salivait pas seulement à l'arrivée de sa nourriture, mais lorsqu'il voyait la pièce, son écuelle ou encore la personne qui le nourrissait habituellement. Ainsi, le chien anticipait l'arrivée de la nourriture et avait donc associé les indices de cet environnement particulier avec le fait qu'il serait nourri. Dans ce cas, la nourriture est ce que l'on nomme le stimulus inconditionnel (SI) qui induit une réponse comportementale autonome, ou réflexe, inconditionnée (RI), ici la salivation. Lorsqu'un stimulus neutre, par exemple un son de cloche, est associé au SI, alors ce stimulus neutre devient conditionné (SC) et induit, à lui seul, la réponse conditionnée (RC), c'est-à-dire la salivation.

Dans l'étude de Weiskrantz, c'est un test de peur conditionnée qui fut effectué, c'est-à-dire qu'un son (SC) était associé à un choc électrique (SI) induisant une réponse réflexe d'évitement (RC). Chez les animaux lésés, un défaut dans l'acquisition de la réponse comportementale adaptée (évitement) face au son prédicteur du choc électrique était visible.

Aujourd'hui, la notion d'émotion est souvent associée au système limbique. Les structures principales qui composent ce système sont : l'hippocampe, le gyrus cingulaire, le fornix, l'hypothalamus le cortex préfrontal et, bien entendu, l'amygdale (Fig. 8).

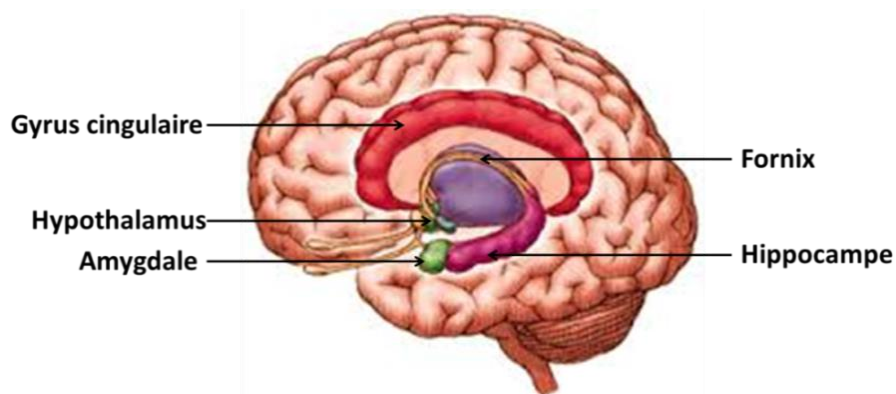


Figure 8 : Schéma représentatif du système limbique

D'après ces données, l'amygdale semble tenir une place centrale dans le processus émotionnel. Dès lors, de nombreuses autres études ont cherché à comprendre comment cette « simple petite structure » pouvait être celle qui sert d'intermédiaire entre, d'une part, l'état émotionnel de l'organisme induit par des signaux environnementaux, et d'autre part, la réponse comportementale spécifiquement adaptée à la situation en question. L'enjeu a également été d'identifier les nombreux comportements émotionnels dans lesquels l'amygdale interviendrait (pour revue : (LeDoux, 2000; Janak & Tye, 2015)).

B) Anatomie et connectivité

L'amygdale est une des structures du cerveau qui reste relativement bien conservée à travers les espèces, confortant encore une fois le rôle crucial qu'elle semble jouer. C'est un complexe hétérogène situé au niveau de la région interne et antérieur du lobe temporal. Elle est composée de plusieurs noyaux qui peuvent cependant être regroupés en deux principaux : le noyau basolatéral (BLA) et le noyau central (CeA) (Janak & Tye, 2015) (Fig. 9).

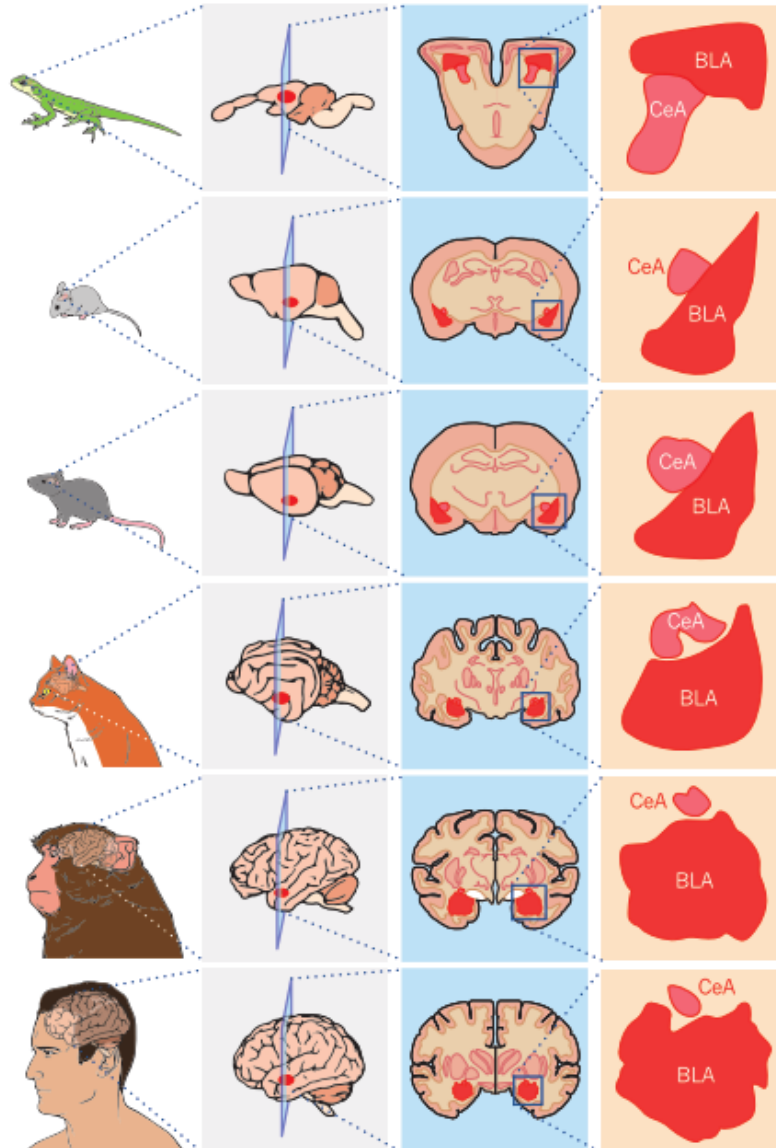


Figure 9 : Représentation de l'évolution de l'amygdale en fonction des espèces

Les deux principaux noyaux (BLA et CeA) ou leurs analogues sont représentés chez chaque espèce : lézard, souris, rat, chat, singe et humain.

D'après Janak et Tye, 2015

Chez le rongeur, l'anatomie et la connectivité de l'amygdale sont très similaires à celles de l'Homme. Dans un souci de simplification, et parce que tous les travaux de cette thèse ont été réalisés à partir d'un modèle de rat transgénique de la MH, les données suivantes seront principalement celles obtenues chez le rat (Fig. 10).

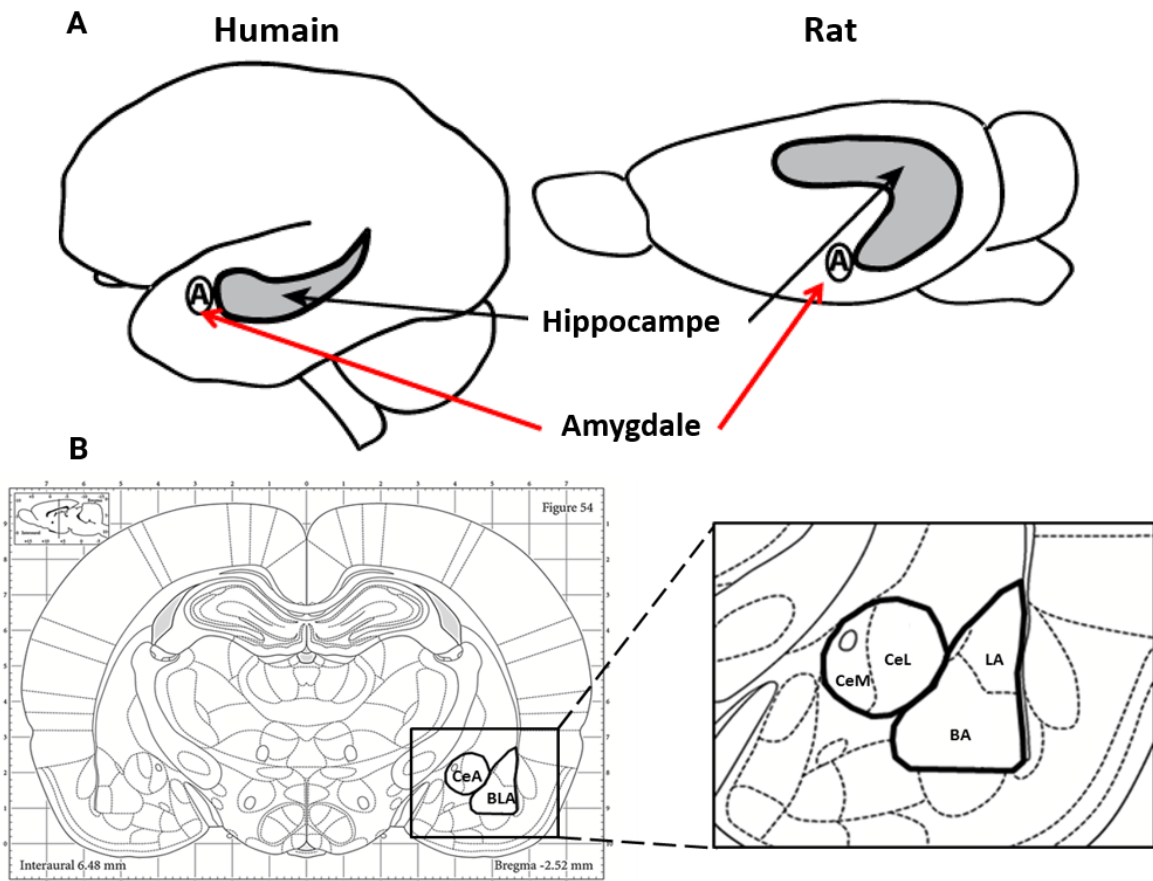


Figure 10 : Représentations schématiques de l'amygdale

- A. Comparaison de la localisation de l'amygdale entre l'Homme (à gauche) et le Rat (à droite).
- B. Détails des noyaux amygdaliens chez le Rat : CeA (amygdale centrale comprenant le CeM (noyau médian) et le CeL (noyau latéral)) et BLA (composé du noyau basal (BA) et du noyau latéral (LA)).

D'après Paxinos et Watson, 1986 et <http://www.psychology.emory.edu/labs/manns/research.html>.

1) Noyau basolatéral de l'amygdale (BLA)

Comme le montre la figure 10B, le BLA est constitué de deux sous-unités principales : le LA (noyau latéral) et le BA (noyau basal) (Krettek & Price, 1978). En termes de connectivité, le BLA est fortement lié aux structures corticales, à l'hippocampe et au cortex entorhinal. Plus particulièrement, beaucoup de structures du système sensoriel projettent sur le LA, faisant de ce noyau le premier relais de la transmission et du traitement des stimuli extérieurs. Majoritairement, ce sont des afférences des aires visuelles, auditives, olfactives, somato-sensorielles (incluent la nociception) et gustatives qui arrivent sur le LA. Concernant les signaux sonores, ils sont transmis au LA directement via le thalamus auditif (LeDoux, 2007) (Fig. 11 A).

Après avoir reçu ces informations, le LA les transmet à son tour à d'autres structures, et principalement aux autres noyaux amygdaliens. Des efférences projettent donc localement sur le BA ainsi que directement sur le CeA, au niveau du CeL. Entre le BLA et le CeA existe une petite population de neurones : les cellules intercalées (ITC) ; ce sont des neurones inhibiteurs qui font l'interface entre les deux noyaux (Paré *et al.*, 2003). De ce fait, le LA projette également sur ces cellules (ITCd (dorsales)) qui elles-mêmes vont projeter au niveau du CeL. Ainsi, le LA interagit de façon directe, mais aussi indirecte avec le CeL (Fig. 12).

Suivant le même schéma, des ITC se situent également entre le BA et le CeA. Après avoir reçu les informations du LA, le BA projette de façon directe et indirecte (via les ITCv (ventrales)) sur le CeM (Fig. 12). Tout comme le LA, le BA reçoit des afférences de l'hippocampe et du cortex entorhinal, mais il reçoit également des informations d'ordre cognitif directement du cortex préfrontal, ainsi que des informations sensorielles qui lui sont envoyées depuis les aires associatives, plutôt que directement des aires corticales primaires, transmettant ainsi des informations déjà élaborées (Fig. 11 A). En dehors du CeA, le BA émet également des efférences vers les mêmes structures qui lui importent les informations, c'est-à-dire le cortex préfrontal et le cortex associatif polymodal, mais aussi au niveau du striatum ventral (LeDoux, 2007) (Fig. 11 B). Si le BLA semble proportionnellement plus gros chez l'Homme et le singe par rapport aux autres espèces et au CeA (Fig. 9), c'est parce que les régions corticales avec lesquelles il interagit sont plus importantes chez ces espèces (Chareyron *et al.*, 2011).

2) Noyau central de l'amygdale (CeA)

Si le BLA est la porte d'entrée de l'amygdale, où les informations sensorielles subissent un premier tri, le CeA y est sans conteste la porte de sortie. Le CeA est lui aussi composé de deux sous-unités : le CeL (noyau latéral) et le CeM (noyau médian) (McDonald, 1982). Le CeL peut lui-même être subdivisé en trois parties : le CeLc (latéral capsular), le Cel (intermédiaire) et le CeL proprement dit (McDonald, 1982; Cassell *et al.*, 1986; Jolkkonen & Pitkänen, 1998). Cependant, il est souvent considéré comme une seule partie fonctionnellement homogène et est donc simplement nommé le CeL (Samson *et al.*, 2005).

Dans la plupart des cas, les afférences du CeA arrivent au niveau du CeL qui les transmet ensuite au CeM, faisant de ce dernier la principale source des projections efférentes de l'amygdale. Ainsi, le CeA reçoit des informations provenant du cortex préfrontal, du cortex viscéro-sensoriel et des divers noyaux du tronc cérébral apportant des informations surtout concernant les viscères, la douleur ou le goût (Fig. 11 A). Évidemment, localement, il reçoit aussi les projections des noyaux du BLA, soit directement (du LA et du BA), soit indirectement (via les ITC) (Fig. 12). Concernant les efférences, elles sont nombreuses et projettent sur des structures

impliquées dans l'expression de comportements adaptés à la situation émotionnelle en cours. Il s'agit, par exemple, du système permettant la synthèse de neurotransmetteurs excitateurs tels que la dopamine (DA), la sérotonine (5-HT), l'acétylcholine (ACh) ou encore la noradrénaline (NA). Il s'agit également du système nerveux sympathique (avec en particulier l'hypothalamus) et parasympathique (le nerf vague). Enfin, il a aussi pour cible la substance grise périaqueducatale (PAG qui est au niveau du tronc cérébral) et le noyau du lit de la strie terminale (BNST) qui, avec le CeA, forment « l'amygdale centrale étendue » (Bienkowski & Rinaman, 2013) (Fig11B).

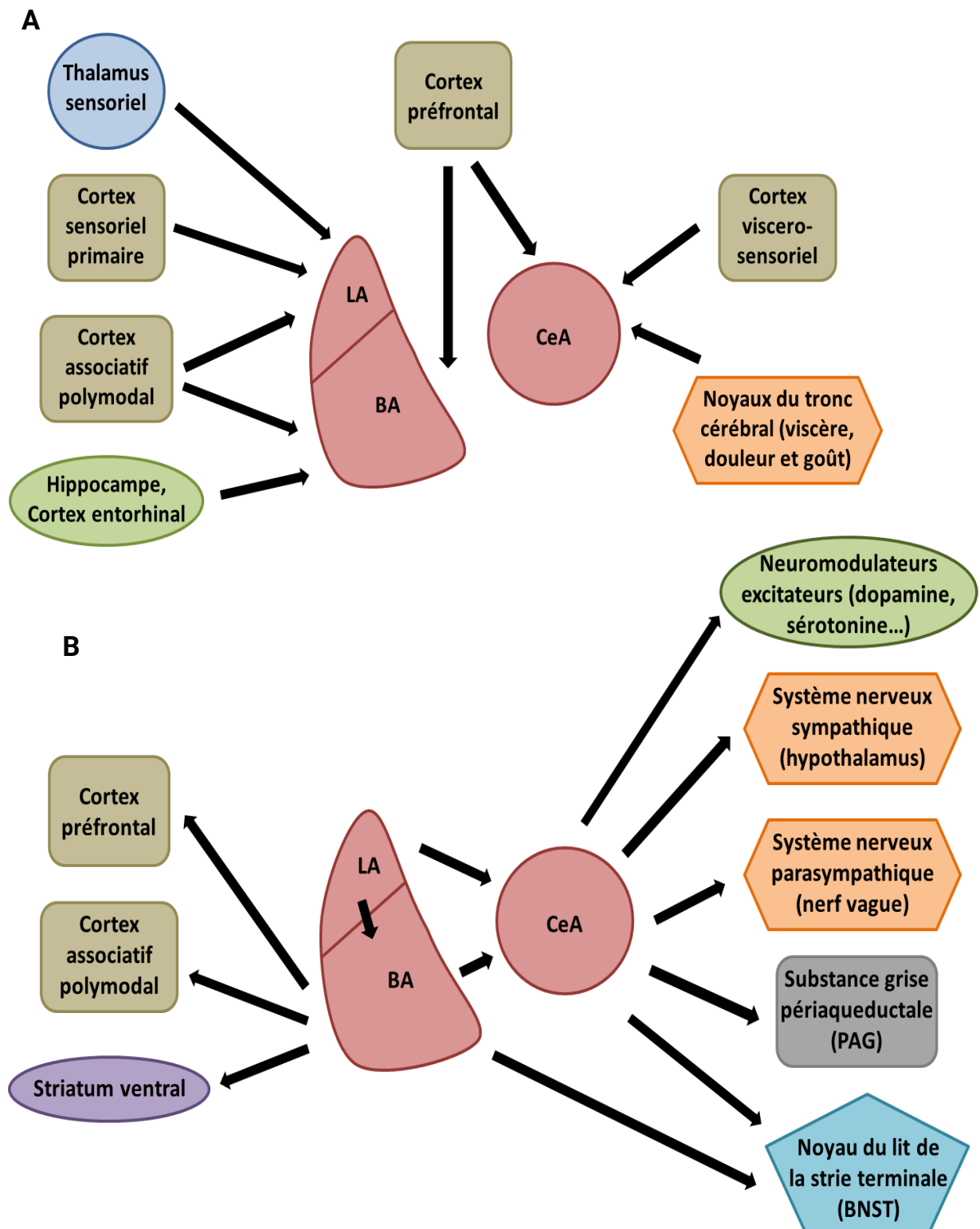


Figure 11 : Représentations schématiques des connexions de l'amygdale

- A. Connexions afférentes du BLA et du CeA.
- B. Connexions efférentes du BLA et du CeA.

D'après LeDoux, 2007

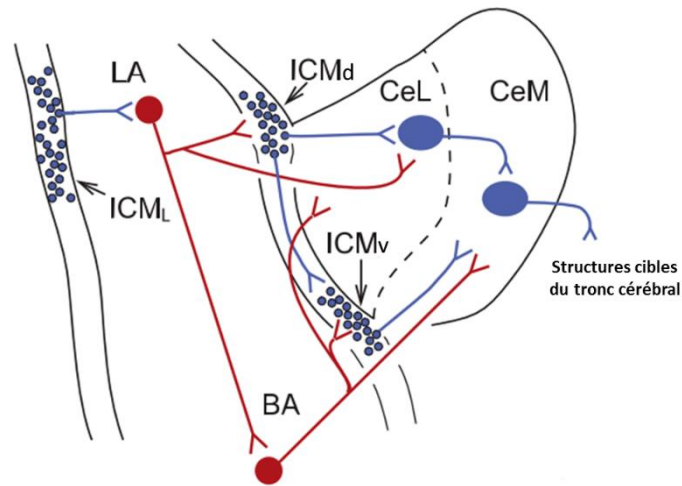


Figure 12 : Représentation schématique des connexions intra-amygdaliennes

Dans le BLA (LA et BA), les neurones sont excitateurs (neurones à projection glutamatergique (en rouge)), alors que les ITC et les neurones du CeA (CeL et CeM) sont inhibiteurs (neurones à projection GABAergique (en bleu)).

D'après (Duvarci & Pare, 2014)

C) Activité cellulaire

Outre leurs connectivités différentes, les deux noyaux principaux de l'amygdale se distinguent aussi par leurs populations neuronales. En effet, le BLA est une structure proche, d'un point de vue cytoarchitectural, organisationnel et cellulaire, du cortex (Swanson & Petrovich, 1998). Les neurones principaux qui le composent sont donc à projection glutamatergique avec, toutefois, une minorité d'interneurones inhibiteurs GABAergiques locaux (McDonald, 1982). Le CeA, quant à lui, avec une population de neurones principalement GABAergique et une morphologie de type épineux de taille moyenne, ressemble fortement au striatum (McDonald, 1982; Cassell *et al.*, 1986; Swanson & Petrovich, 1998).

L'enjeu, à présent, est de comprendre les mécanismes qui permettent de moduler l'activité de l'amygdale afin que les réponses adaptées soient exprimées. Ce n'est que récemment que ces mécanismes d'action commencent à être finement expliqués d'un point de vue cellulaire. L'amygdale est une structure cérébrale relativement silencieuse, car elle contient un important réseau inhibiteur qui restreint l'activité cellulaire à un niveau assez bas (LeDoux, 2007). Plus précisément, c'est le CeL qui est considéré comme l'interface inhibitrice empêchant fermement la sortie des informations aux structures cibles du CeM (Ehrlich *et al.*, 2009). En effet, deux types de populations neuronales GABAergiques ont été identifiés dans le CeL : les cellules CeL_{on} et les cellules CeL_{off} (Ciocchi *et al.*, 2010). Ce sont les cellules CeL_{off} qui projettent sur le CeM

dans le but de l'inhiber et de maintenir un niveau faible d'activité basal. Mais lorsqu'un stimulus conditionné (SC) est présenté, les cellules CeL_{off} sont inhibées alors que les cellules CeL_{on} sont excitées. Étant donné que ces deux sous-populations de neurones s'inhibent mutuellement, et que, lors de la présentation du SC, les cellules CeL_{on} sont activées avec une latence plus courte, alors les cellules CeL_{on} inhibent les cellules CeL_{off} et lèvent l'inhibition du CeM (Janak & Tye, 2015). Autrement dit, l'excitation du CeL, lors d'une situation menaçante, entraîne une désinhibition du CeM et donc une activation des différentes structures impliquées dans les réponses de peur et d'anxiété (Ehrlich *et al.*, 2009) (Fig. 13).

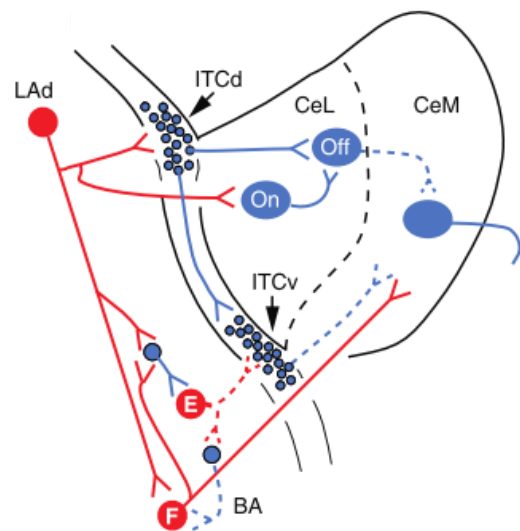


Figure 13 : Représentation schématique des interactions intra-amygdaliennes dans une situation menaçante

Lors de la présentation d'un stimulus menaçant, les cellules glutamatergiques du LA (en rouge) viennent exciter les cellules du CeL soit directement sur les CeL_{on}, soit indirectement sur les CeL_{off}. Les cellules CeL_{on} vont alors rapidement désinhiber le CeM en inhibant les cellules CeL_{off}. L'expression des réponses comportementales est ainsi induite.

D'après (Paré & Duvarci, 2012)

Le circuit de l'amygdale peut être modulé par une multitude de neurotransmetteurs (par exemple la noradrénaline, la dopamine, la sérotonine et l'acétylcholine), dont la libération est d'ailleurs directement liée à l'activation du CeA. En effet, la libération de ces neurotransmetteurs dans l'amygdale va influencer les interactions neuronales pour qu'elles soient plutôt excitatrices ou au contraire plutôt inhibitrices (LeDoux, 2007). Par exemple, il est connu que la libération de sérotonine inhibe l'activité cellulaire du LA. Cette inhibition est due au fait que la sérotonine excite les cellules GABAergiques qui vont à leur tour inhiber les neurones efférents du LA.

D'après ces données, il semble que ce soit le réseau inhibiteur qui permette de moduler finement l'activité de l'amygdale. Or, ce réseau inhibiteur est conféré par le GABA qui, comme il a été dit, est le principal neurotransmetteur inhibiteur du système nerveux central des mammifères (Macdonald & Olsen, 1994). Il existe 3 types de récepteurs pour le GABA (GABA-R) : les récepteurs ionotropiques GABA-A et GABA-C qui sont perméables aux ions chlores (Enz & Cutting, 1998) et le récepteur métabotropique GABA-B qui est couplé aux protéines-G et qui est perméable aux ions calcium et potassium (Bowery & Enna, 2000). Celui qui est principalement représenté dans le système nerveux central est le récepteur GABA-A (Chu *et al.*, 1990). D'ailleurs, le CeA est particulièrement riche en récepteurs GABA-A. De ce fait, lorsque le GABA se fixe sur son récepteur, le neurone s'hyperpolarise favorisant alors l'entrée d'ions chlore chargés négativement et provoquant une diminution de l'activité neuronale.

Certaines drogues ont la capacité de modifier cette activité. En effet, le récepteur GABA-A est une protéine de 5 sous-unités, formant un canal, qui contient un site de liaison spécifique pour le GABA, mais également pour d'autres substances. Certains anesthésiques, les barbituriques, les benzodiazépines ou encore le muscimol sont des agonistes du récepteur GABA-A, alors que la bicuculine ou la picrotoxine en sont des antagonistes (DeLorey & Olsen, 1992). Ces substances pharmacologiques modulent l'efficacité du GABA en induisant une modification architecturale du récepteur GABA-A. Ce changement transforme la taille du canal, ce qui modifie sa perméabilité au chlore (Olsen & Tobin, 1990; DeLorey & Olsen, 1992). Puisqu'elles ne se fixent pas exactement au même endroit que le GABA, ces drogues sont dites modulatrices, car elles diminuent ou augmentent l'effet du GABA, mais elles sont sans effet en son absence (Olsen, 1981). Celles qui diminuent l'efficacité du GABA, donc la perméabilité au chlore, ont un effet anxiogène (Cole *et al.*, 1995; Sanders & Shekhar, 1995). Celles, au contraire, qui augmentent la transmission GABAergique, et par conséquent la perméabilité au chlore, ont un effet anxiolytique (Nagy *et al.*, 1979; Harris & Westbrook, 1995).

D) Fonctions

Dans le cerveau, les fonctions des structures sont souvent définies par les liens qu'elles établissent avec les autres structures, alors que leurs caractéristiques cellulaires renseignent plutôt sur leur mode de fonctionnement. Ainsi, l'étude de la connectivité et de l'activité cellulaire des noyaux amygdaliens indiquent que l'amygdale est un complexe sophistiqué, où chaque sous-unité tient un rôle bien défini et nécessaire à son bon fonctionnement. Se faisant, l'amygdale apparaît comme la structure centrale du réseau neuronal qui sous-tend le processus émotionnel.

En reprenant les informations énoncées plus haut, il apparaît que les connexions du CeM avec les aires du tronc cérébral sont impliquées dans le contrôle des réponses à la fois comportementales et physiologiques. En effet, le CeM active le système nerveux autonome (sympathique et parasympathique), ce qui a pour conséquence l'expression de réponses végétatives telles que l'augmentation des rythmes cardiaque et respiratoire, le nombre de défécations ou encore la piloérection. Une libération des hormones de stress, en particulier le cortisol (glucocorticoïde), est également observée à la suite de l'activation de l'hypothalamus. Plus précisément, l'activation de l'hypothalamus est réalisée par l'intermédiaire du BNST, lui-même sous la dépendance du CeM et du BLA. Concernant les réponses comportementales, elles se manifestent principalement par des réactions de type défensif, comme le « freezing » qui est un état d'immobilité, caractéristique des animaux de proies, comme le rat. Cet état de freezing est principalement contrôlé par le PAG, structure sur laquelle le CeM projette. Cependant, il a récemment été montré que les cellules CeL_{off} projettent de façon directe sur le PAG. Ceci remet légèrement en cause le fait que le CeM est la voie unique de sortie comportementale (Penzo *et al.*, 2014; Janak & Tye, 2015).

D'autre part, le BLA, en plus d'être connecté avec le CeA, l'est également avec les aires striatales qui sont impliquées dans le contrôle des comportements instrumentaux. Ainsi, bien que les projections de sortie du CeA sur le tronc cérébral soient impliquées dans le contrôle des réactions émotionnelles citées précédemment (comme le freezing en présence d'un prédateur), des connexions du BLA au striatum sont aussi impliquées dans le contrôle d'actions, comme la fuite (LeDoux, 2007).

Toutes ces données nous montrent que le CeA est une région importante pour l'expression des réponses émotionnelles innées et pour les réponses physiologiques qui y sont associées. De plus, il est particulièrement impliqué dans les réponses de type peur ou anxiété. Ceci est confirmé par le fait que, le BNST avec lequel le CeA interagit fortement, est principalement connu pour jouer un rôle crucial dans l'anxiété (Walker *et al.*, 2003).

Plus globalement, deux fonctions majeures ont été attribuées à l'amygdale. Tout d'abord, c'est par son intermédiaire qu'un souvenir, à forte connotation émotionnelle, sera facilement gardé en mémoire. En effet, l'amygdale faciliterait l'effet des hormones de stress, qui sont libérées lors d'un événement émotionnel particulier, sur la formation du souvenir de cet épisode (McGaugh, 2000). La deuxième est que l'amygdale, région où la plasticité synaptique est très importante, favoriserait ainsi la formation et la mise en mémoire d'un conditionnement pavlovien de peur (LeDoux, 2000).

Par ailleurs, même si la majorité des études réalisées sur l'amygdale démontrent son implication dans les émotions plutôt négatives (peur, anxiété...), certaines recherches ont aussi montré son implication dans les émotions plus positives. En effet, une étude récente suggère que des émotions de joie ou de bonheur sont associées à une amygdale « équilibrée », c'est-à-dire répondant de façon adaptée à des stimuli aussi bien positifs que négatifs (Cunningham & Kirkland, 2014). Luiz Pessoa attribue également à l'amygdale une fonction de « juge » : l'amygdale analyserait et assignerait une valeur à tous les stimuli, qu'ils soient négatifs ou positifs (Pessoa, 2013). Pour aller plus loin, il a été montré que les neurones activés par une injection de morphine étaient principalement localisés dans le CeL, alors que ceux activés par un choc électrique se situaient plutôt dans le CeM. Il semblerait alors qu'il y ait une activation spécifique d'une population de neurones du CeA en fonction de la valence du stimulus (Xiu et al., 2014; Janak & Tye, 2015)

E) Lien entre amygdale et symptômes émotionnels de la MH

Il vient d'être montré que l'amygdale est la structure-clé du processus émotionnel. La question se pose alors : ce peut-il qu'un dysfonctionnement de l'amygdale soit à l'origine de troubles émotionnels, comme ceux observés dans la MH ?

Chez les patients humains MH, des études de neuro-imagerie anatomique montrent une diminution du volume de certaines structures cérébrales et en particulier de l'amygdale (Thieben et al., 2002; Rosas et al., 2003; Douaud et al., 2006; Petrasch-Parwez et al., 2007) (Fig. 14).

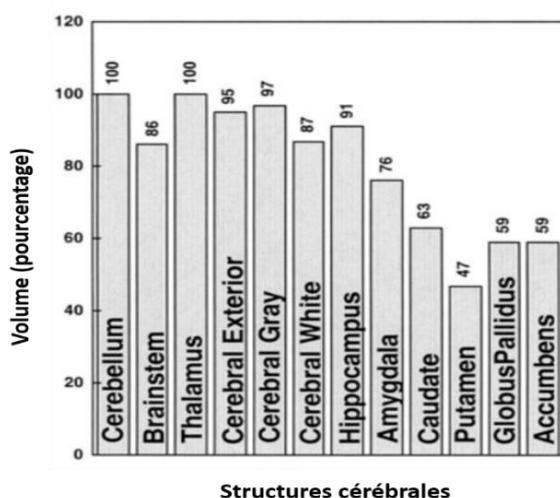


Figure 14 : Représentation du volume des structures cérébrales de patients MH par rapport à des sujets sains (100 %)

Une diminution du volume du Striatum (noyau caudé et putamen), du globus pallidus, du noyau accumbens, mais aussi de l'Amygdale est particulièrement visible.

D'après Rosas et al, 2003

La diminution de volume de l'amygdale est la conséquence d'une perte neuronale à ce niveau. Or, comme dit précédemment, la présence de sites d'agrégation de mhtt serait l'une des causes de neurodégénérescence et donc en amont de l'altération aussi bien structurelle que fonctionnelle des neurones. De nombreux travaux ont d'ailleurs montré que la perturbation de la connectivité neuronale (résultant comme ici de pertes synaptiques et d'anomalies dendritiques précoces) est le corrélat pathologique le plus robuste des maladies dégénératives ayant un impact cognitivo-émotionnel.

Chez des patients MH symptomatiques, des corrélations ont été faites entre des déficits de reconnaissance des émotions, en particulier des émotions négatives telles que la colère ou la peur et l'atrophie de structures comme l'insula, l'hippocampe, le cortex orbito-frontal ou encore l'amygdale (Johnson *et al.*, 2007; Kipps *et al.*, 2007; Henley *et al.*, 2008). Plus récemment, il a été montré qu'une simple réduction de l'activité amygdalienne était associée à une altération de la reconnaissance des émotions (Thieben *et al.*, 2002; Rosas *et al.*, 2003; Ille *et al.*, 2011; Dogan *et al.*, 2014).

Dans un modèle de rat transgénique pour la MH (rats TgHD, détaillés ci-après), outre des symptômes émotionnels, une réduction du volume de l'amygdale et en particulier du CeA a été mise en évidence (Faure *et al.*, 2011).

Ces données indiquent que la diminution de la surface et/ou du volume de l'amygdale, ainsi que son activité métabolique, pourraient être à l'origine de son dysfonctionnement et, par conséquent, des troubles émotionnels de la MH.

IV) Modèles de la MH

La MH est une maladie rare, cependant, c'est un bon modèle de pathologie neurodégénérative. En effet, du fait de son origine purement génétique elle est, à ce jour, plus facilement reproductible sur des animaux, ou des cellules, que d'autres maladies neurodégénératives multifactorielles comme la maladie d'Alzheimer ou de Parkinson.

Ces dernières années, beaucoup de modèles animaux ont été utilisés pour l'étude de la MH : d'un point de vue génétique, les modèles tels que *C. elegans* ou encore la drosophile ont permis de mieux comprendre et d'identifier les acteurs génétiques et protéiques responsables de la maladie. Ensuite, des modèles murins et même un modèle primate ont permis d'étudier plus en détail le phénotype et la symptomatologie de la MH. Cette grande variété de modèles est importante pour avoir une idée fine et précise du mode d'action de la MH chez l'Homme et ainsi définir de nouvelles voies thérapeutiques.

A) Modèles cellulaires

En général, les modèles cellulaires sont utilisés pour étudier les altérations de voies de signalisation qui existeraient dans la pathologie en question. La maladie de Huntington a ainsi été analysée à travers de nombreux modèles cellulaires.

L'un des plus simples est celui de *Saccharomyces cerevisiae* (levure) qui a permis d'étudier le phénomène de toxicité cellulaire induit par la formation d'agrégats mhtt dans le cytoplasme (Krobitsch & Lindquist, 2000; Meriin *et al.*, 2002). Des modèles cellulaires dits « génétiques » ont également été utilisés. Ils sont réalisés à partir de cellules embryonnaires rendues immortelles, de rat par exemple, et sont capables de se différencier en un type de neurones particuliers. Même si un faible pourcentage seulement porte la mutation (ce qui requiert une méthode d'analyse particulière afin de s'assurer que le phénomène observé est bien dû à la mutation), ces cellules ont permis la mise en évidence du rôle anti-apoptotique de la htt (et particulièrement la position de cette action), aussi bien dans des cellules ayant une htt fonctionnelle que dans des cellules qui en sont dépourvues (Cattaneo *et al.*, 2001; Zhang *et al.*, 2006).

D'autre part, dans le cadre d'études d'électrophysiologie *ex vivo* sur tranche de cerveaux, l'effet de neurotoxine (comme la 3-nitropropionique) sur la transmission synaptique, au niveau striatal par exemple (c'est-à-dire au niveau de structure que l'on sait altérée dans la MH), a été étudié.

Enfin, des études réalisées à partir de cellules directement issues de patients MH (des lymphoblastes ou des fibroblastes) ont permis d'étudier les impacts de la MH au niveau métabolique (Valenza *et al.*, 2005), ou ont encore permis de révéler un défaut dans la structure de leur réseau mitochondrial (Squitieri *et al.*, 2006).

Pour résumer, ces différents modèles cellulaires permettent surtout d'étudier la MH d'un point de vue biochimique et, en particulier, la biochimie liée à la protéine htt : les interactions protéine-protéine (donnant des informations capitales sur les différentes fonctions de la htt) ou encore les effets et les mécanismes de son agrégation. Ces modèles cellulaires ont cependant leurs limites. En effet, afin de poursuivre l'investigation de la MH d'un point de vue plus intégrée, il est nécessaire d'utiliser les modèles animaux.

B) Modèles animaux transgéniques

Dans le cas de maladie neurodégénérative comme la MH, les études moléculaires ne peuvent suffire à la compréhension totale de la pathologie. Des études comportementales sont alors nécessaires et inévitablement menées sur les modèles animaux. Ces derniers sont d'ailleurs également nécessaires aux études cliniques, avant que celles-ci puissent être transposées à l'Homme.

C'est à partir de 1993, date à laquelle le gène HTT fut identifié (The Huntington's Disease Collaborative Research Group, 1993) que la multitude de modèles animaux a commencé à émerger.

1) Souris

La souris est un modèle utilisé massivement en recherche biologique en tant que modèle transgénique. Dans le cas de la MH, Mangiarini et collaborateurs les ont utilisé pour créer la souris R6 : insertion de l'exon 1 du gène IT15 humain contenant plus de 115 répétitions du codon CAG (Mangiarini *et al.*, 1996). Quatre versions de ce modèle souris ont ainsi été créées : R6/0, R6/1, R6/2 et R6/5 (différentes en fonction de la longueur de la queue polyglutaminique), mais la plus largement étudiée est la lignée R6/2. Des lignées Knock-in (KI) ont également été créées à partir de la mutation du gène HTT murin dans lequel l'expansion polyglutaminique est simplement allongée.

Dans ces deux modèles, les études rapportent des résultats plus ou moins contradictoires concernant les troubles d'ordre émotionnel et en particulier ceux ayant trait à l'anxiété. En effet, dans l'étude de File, une diminution de l'anxiété est visible à partir de 6 semaines chez les

souris R6/2 (test du labyrinthe en croix surélevé) (File *et al.*, 1998), alors que dans ce même modèle, une augmentation du niveau d'anxiété (test de la boîte claire/obscur) a été remarquée à 5 semaines (Hickey *et al.*, 2005) et à 12 semaines (Menalled *et al.*, 2009). Dans une lignée KI, une augmentation de l'anxiété a également été remarquée dans des souris âgées de 6 semaines (Hickey & Chesselet, 2003). De plus, des déficits d'apprentissage dans des tâches d'évitement actif (apprentissage d'une réponse d'évitement d'un choc prédit par un stimulus conditionné (SC)) ont été trouvés chez des souris R6/2 âgées de 8 à 12 semaines (Ciamei & Morton, 2008; Rudenko *et al.*, 2009). Dans la même idée, des déficits d'apprentissage de peur conditionnée à un contexte sont observés chez les souris R6/2 (Bolivar *et al.*, 2003), alors qu'une augmentation des réponses conditionnées de peur (freezing) est visible chez des souris KI de 5 mois (Hickey *et al.*, 2008).

Ces résultats témoignent bien de la complexité d'analyse et de compréhension des symptômes émotionnels de la MH. À noter que chacun des modèles animaux utilisés n'exprime qu'imparfaitement la neuropathologie et les phénotypes comportementaux de la pathologie humaine. Les effets de la MH varient effectivement selon le fond génétique, propre à chaque lignée, ainsi que le mode de construction et d'introduction du gène muté. Afin de réduire au maximum ces perturbations « espèces hôtes/souche », des modèles ayant le gène muté humain entier (full length) ont plus récemment été créés. Pour cela des chromosomes artificiels de levure ou de bactérie ont été utilisés (YAC : Yeast Artificial Chromosome et BAC : Bacterial (E. Coli) Artificial Chromosome). Ce sont des vecteurs capables de contenir de grands fragments d'ADN et de les transférer dans les cellules hôtes afin que l'espèce, devenue transgénique, intègre le gène d'intérêt dans son génome.

En 1999, Hodgson et son équipe (Hodgson *et al.*, 1999) mettent au point la première souris « full-length » YAC46 et YAC72, puis Slow et collaborateurs, en 2003, en créent une possédant 128 répétitions du codon CAG (Slow *et al.*, 2003). Les études menées ensuite sur ces souris révèlent des déficits moteurs et cognitifs progressifs et dépendants de la neurodégénérescence du striatum et des autres structures corticales altérées dans la MH (Slow *et al.*, 2003; Van Raamsdonk *et al.*, 2005).

Concernant les souris BAC pour la MH (BACHD), la première lignée a été créée par Gray et son équipe en 2008 (Gray *et al.*, 2008). Dans ce modèle également, des déficits moteurs sont visibles assez tardivement, c'est-à-dire de façon corrélée à l'apparition de la neurodégénérescence du striatum et du cortex. Concernant les troubles émotionnels, les souris BACHD expriment un plus haut niveau d'anxiété que des souris wild-type (WT) (elles passent moins de temps à explorer un endroit éclairé, c'est-à-dire anxiogène pour les rongeurs). De plus,

leur niveau de freezing, lors d'un test de peur conditionnée, est également supérieur à celui des souris WT (Abada *et al.*, 2012).

De par ces études, la souris semble être un bon candidat pour la modélisation des symptômes de la MH. Cependant, d'autres modèles ont encore été créés afin de répondre à tous les aspects de la MH.

2) Les autres modèles

D'autres modèles existent pour des études plutôt tournées sur l'aspect protéique de la MH. En 2001, le modèle nématode est créé (*C. elegans*) (Parker *et al.*, 2001). Puis, la drosophile (Marsh *et al.*, 2003), le poisson-zèbre (Miller *et al.*, 2005) et enfin le macaque rhésus (Yang *et al.*, 2008) ont également servi de modèle d'étude pour la MH.

C) Modèles rats

Les rats, tout comme les souris, sont des animaux très souvent utilisés pour l'expérimentation animale. Ils sont intelligents et particulièrement prisés pour les études de psychophysiologie étant donné leur large panel de comportements assez facilement observables (Barnett, 1963). Dans ces conditions, il semble donc approprié de les utiliser en tant que modèle de la MH et, plus spécifiquement, pour l'étude des symptômes émotionnels et cognitifs de la maladie.

1) TgHD

En 2003, l'équipe de Von Hörsten a développé le premier modèle de rat transgénique de la MH (TgHD). Ce modèle de rat est dit « fragmentaire », car il ne possède qu'une portion du gène HTT humain muté, celle contenant l'expansion polyglutaminique, avec 51 répétitions du codon CAG. Dans cette première étude, les rats TgHD possèdent un phénotype proche de la forme tardive de la MH, avec une réduction de l'anxiété ainsi que des troubles cognitifs et moteurs se déclarant progressivement et, à l'âge de 12 mois, des agrégats sont retrouvés dans le striatum (Von Horsten *et al.*, 2003).

Les études suivantes sur ce modèle ont montré que les rats TgHD âgés de 6 mois (pré-symptomatique) présentent une perturbation des comportements émotionnels, également caractérisée par une hypo-anxiété aux stades précoces de la maladie. Concernant les marqueurs de neurodégénérescence que sont les agrégats, ils sont retrouvés dès l'âge de 6 mois dans certaines structures et se propagent ensuite progressivement à l'ensemble du

cerveau (Fig. 15), ainsi à 12 mois une atrophie du striatum a été mise en évidence dans ce modèle (Nguyen *et al.*, 2006; Bode *et al.*, 2008; Urbach *et al.*, 2010).

Par la suite, il a également été mis en évidence un émoussement émotionnel de la perception hédonique, caractérisé par une baisse des réponses orofaciales hédoniques, ainsi qu'une hyper-réactivité aux changements émotionnels positifs et négatifs de la valeur de la récompense. Ces altérations comportementales sont d'ailleurs parallèles à la réduction spécifique du volume du CeA observée chez ces rats TgHD (Faure *et al.*, 2011). De plus, dans ce modèle, une étude électrophysiologique *in vivo* a montré que certaines altérations des fonctions exécutives observées chez les rats TgHD pouvaient être dues à un dysfonctionnement précoce de la voie préfronto-striatale (Höhn *et al.*, 2011).

| Area / age [months] | 3 | 6 | 9 | 12 | 15 | 21 |
|-------------------------------------|---|-----|-----|-----|-----|-----|
| Olfactory bulb (granule cell layer) | - | - | - | +/- | + | + |
| Olfactory tubercle | - | - | +/- | + | ++ | ++ |
| Stria terminalis | - | +/- | + | + | + | + |
| Lateral septal nucleus | - | +/- | + | + | + | + |
| Nucleus accumbens | - | + | + | + | ++ | +++ |
| Caudate/putamen | - | - | +/- | + | ++ | +++ |
| Ventral pallidum | - | - | +/- | + | ++ | ++ |
| Globus pallidus | - | - | +/- | +/- | ++ | ++ |
| Amygdala | - | - | +/- | + | ++ | +++ |
| Hippocampus | - | - | + | + | ++ | - |
| Thalamus (posterior nuclei) | - | - | - | + | + | ++ |
| Lateral geniculate nucleus | - | +/- | + | + | +++ | ++ |
| Medial geniculate nucleus | - | +/- | + | + | ++ | ++ |
| Substantia nigra (pars compacta) | - | - | - | +/- | + | ++ |
| Substantia nigra (pars reticulata) | - | - | +/- | + | ++ | +++ |
| Superior colliculus | - | - | +/- | ++ | ++ | +++ |
| Inferior colliculus | - | +/- | + | ++ | +++ | +++ |
| Cortex | - | - | - | +/- | + | + |

Figure 15 : Tableau récapitulatif de la présence d'agrégats dans les différentes structures cérébrales en fonctions de l'âge des rats TgHD

De « - », où aucun agrégat n'est détecté dans la structure, à « +++ », où les agrégats sont très nombreux dans la structure.

D'après Nguyen et al, 2006

2) BACHD

Bien que ce premier modèle de rat transgénique fragmentaire possède de nombreux aspects de la pathologie humaine, il ne réplique qu'imparfaitement le contexte protéique de la situation humaine. Afin de dépasser cette lacune, l'équipe de Nguyen a récemment généré un modèle de rats transgéniques BACHD (Yu-Taeger *et al.*, 2012) qui n'exprime pas seulement l'expansion polyglutaminique, mais la protéine huntingtine mutante humaine complète (full length model), comme chez les patients porteurs de la maladie. Dans ce modèle, le plasmide BAC possède le gène d'intérêt HTT muté avec 97 répétitions du codon CAA/CAG (l'ajout du codon CAA, qui code également pour la glutamine, confère une meilleure stabilité génétique à l'ensemble de l'élongation) flanqué d'un site LoxP de chaque côté de cette expansion polyglutaminique (Fig. 16). L'injection de Cre, via un lentivirus, aura alors pour effet d'exciser l'élongation polyglutaminique au niveau des sites LoxP. La conséquence de cette excision au niveau du gène HTT est l'arrêt de la production de la protéine htt muté. Ainsi, l'avantage de la construction des rats BACHD est qu'elle permet l'inactivation de la protéine mhtt par l'expression de Cre dans n'importe quelle région cérébrale et à n'importe quel stade de la maladie, permettant l'étude des dysfonctionnements induits par cette protéine mhtt dans des régions ciblées d'intérêt *in vivo*.

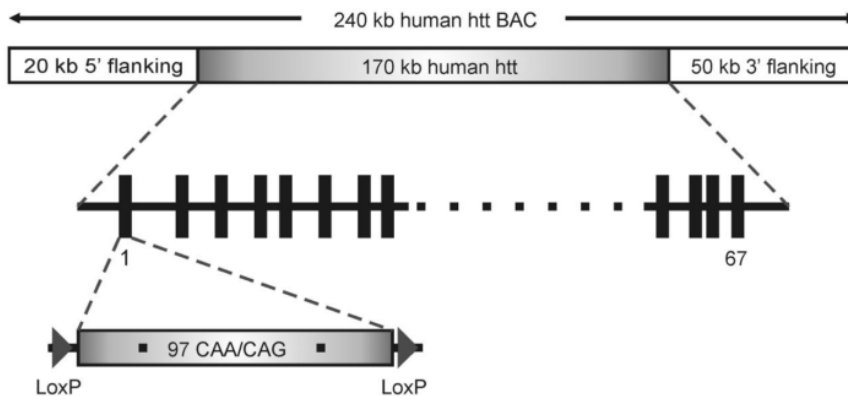


Figure 16 : Représentation de la construction du modèle BACHD

Portion du vecteur BAC contenant le gène HTT humain entier (170 Kb). Sur l'exon 1, la queue polyglutaminique contient 97 répétitions CAA/CAG et est flanquée d'un site LoxP à chaque extrémité.

Yu-Taeger et al, 2012

Dans son étude, Yu-Taeger et collaborateurs montrent que le modèle BACHD possède un phénotype plutôt proche de la forme précoce de la maladie avec des premiers symptômes moteurs fins apparaissant vers l'âge de 1 mois, ainsi qu'une hypo-activité initiale. Des troubles de l'anxiété apparaissent également précocement avec une réduction du niveau anxieux dès 4

mois (augmentation du temps passé dans un endroit éclairé par rapport aux rats WT). De plus, dans ce modèle, il y a formation d'agrégats de mhtt dans diverses structures cérébrales, notamment l'hippocampe, l'amygdale et le BNST à l'âge de 12 mois (Yu-Taeger *et al.*, 2012).

Par la suite, deux études ont été menées afin de mieux caractériser les phénotypes moteur et cognitif de ce nouveau modèle. Les rats BACHD présentent ainsi des déficits de l'équilibre précocement (à 2 mois) et de la coordination motrice plus tardivement (à 12 mois), reflet d'une altération progressive des symptômes moteurs comme observé chez les patients. Cependant, des déficits cognitifs (étude de la mémoire à court terme lors d'un test de reconnaissance d'objet) ne semblent pas encore présents chez ces animaux âgés de 12 mois (Abada, Nguyen, Schreiber, *et al.*, 2013). Dans une deuxième étude, un déficit de mémoire spatiale chez les rats BACHD âgés de 6 mois (test d'inversion comportementale dans un labyrinthe en T) a été rapporté. Concernant les troubles d'ordre émotionnel, à 3 mois les rats BACHD présentent un déficit d'apprentissage de la peur conditionnée (taux de freezing bas lors de la présentation du contexte conditionné). L'hypothèse est alors émise que ce faible taux de freezing pourrait être dû à un déficit du réseau hippocampe-amygdale (Abada, Nguyen, Ellenbroek, *et al.*, 2013).

Enfin, à ce jour, une dernière étude a été réalisée sur ce modèle de rat transgénique afin d'évaluer l'impact des perturbations métaboliques, présentes dans ce modèle, sur des tests évaluant l'état motivationnel (souvent induit par de la nourriture). Les résultats de cette étude montrent que, lorsque tous les animaux, âgés de 6 mois, sont privés à 85 % de leur poids initial, les rats BACHD mangent plus lentement (lors d'un test de consommation de pellets), mais que la quantité consommée n'est pas différente de celle des rats WT. Cependant, lorsqu'est comparée la quantité de nourriture habituelle que mangent les animaux dans leur cage, les rats BACHD en consomment moins que les rats WT. De plus, dans une tâche où les animaux doivent effectuer un certain nombre d'appuis afin d'obtenir un pellet de nourriture, les rats BACHD sont moins motivés que des rats WT à effectuer cette réponse instrumentale pour obtenir de la récompense (les animaux sont également maintenus à 85 % de leur poids initial et ils sont âgés de 4 mois) (Jansson *et al.*, 2014).

D'après ces résultats, ce modèle semble bien refléter les symptômes et la neuropathologie de la MH. Cependant, c'est un modèle récent qui demande à être davantage caractérisé particulièrement au niveau des troubles émotionnels de la maladie. En effet, du fait de sa durée de vie plus longue, le rat permet une étude plus approfondie de la phase pré-symptomatique, phase durant laquelle les premiers symptômes neuropsychiatriques apparaissent.

V) Objectifs du travail de thèse

L'introduction générale de cette thèse a permis d'exposer les connaissances actuelles de la MH et même si cette pathologie est relativement bien documentée, les symptômes neuropsychiatriques restent à ce jour peu caractérisés. Ils apparaissent pourtant avant les troubles moteurs et sont reconnus pour avoir un impact dramatique sur la qualité de vie des patients et de leur famille. Dans ce contexte, il semble important que des recherches soient menées sur ces troubles, car pour que de nouvelles pistes thérapeutiques soient envisagées, il faut définir l'origine de ces symptômes ainsi que la période à laquelle ils surviennent.

Afin de définir quelles sont les bases neurobiologiques qui sous-tendent les symptômes émotionnels de la MH, les travaux de cette thèse ont eu pour objectif de répondre aux questions suivantes :

- Quels sont les symptômes émotionnels retrouvés dans notre modèle d'étude, les rats BACHD ? Quelles est leur évolution en fonction de l'âge des animaux et de la progression de la MH ? Reflètent-ils correctement la symptomatologie humaine ?
- Existe-t-il un lien entre un dysfonctionnement précoce de l'amygdale et les symptômes émotionnels ? Ce dysfonctionnement est-il visible aussi bien au niveau cellulaire que comportemental ? Quels sont les impacts au niveau cognitif ?

Pour répondre à ces questions, le premier chapitre vise à caractériser finement le phénotype émotionnel des animaux BACHD. Une première partie établit ainsi une analyse globale de ce modèle à un stade pré-symptomatique (4 mois). Puis, dans la seconde partie, les différentes facettes des troubles émotionnels sont étudiées en fonction de l'âge (4 mois, 12 mois et 18 mois) via l'utilisation de plusieurs tests comportementaux.

Dans le deuxième chapitre, afin d'établir le lien entre un dysfonctionnement de l'amygdale (et en particulier du CeA) et les symptômes émotionnels de la MH, nous avons d'abord étudié les conséquences de la mutation de la protéine htt au niveau cellulaire via des études immunohistochimiques. Les résultats de la partie précédente suggèrent que les troubles émotionnels traduisent un phénotype d'hyper-réactivité face à un environnement menaçant chez les animaux BACHD. L'hypothèse est alors faite que ce phénotype serait lié à une hyper-activité (possiblement compensatrice) du CeA. Afin de vérifier ceci, les patterns d'agrégats mhtt et d'activation cellulaire des différents noyaux amygdaliens (CeA et BLA) sont comparés. Plus précisément, le niveau d'activation des différentes parties du CeA (latéral (CeL) et médian (CeM)) est également analysé.

Dans ce chapitre, il est ensuite étudié l'impact de la modulation de l'activité du CeA sur le comportement anxieux des animaux. D'une part sur des rats normaux pour vérifier que la modulation spécifique du CeA modifie le niveau anxieux des rats et que cela impacte également les capacités cognitives (test d'évitement actif signalé). D'autre part, sur les animaux BACHD, pour voir si les modifications de comportement induites par la modulation du CeA sont comparables à celles des animaux contrôles.

CHAPITRE 1 :
CARACTÉRISATION DU PHÉNOTYPE ÉMOTIONNEL
DES RATS BACHD

CHAPITRE 1 : CARACTÉRISATION DU PHÉNOTYPE

ÉMOTIONNEL DES RATS BACHD

I) Introduction

Le rat transgénique BACHD est un modèle de MH relativement récent. À ce jour, peu d'études ont été réalisées sur les rats BACHD et aucune sur une caractérisation approfondie de leurs symptômes émotionnels. Comme le but à terme est d'évaluer spécifiquement ces symptômes émotionnels, il est d'abord nécessaire d'avoir une bonne connaissance des différents troubles déjà présents à un stade pré-symptomatique, c'est-à-dire à un stade où les premiers symptômes neuropsychiatriques sont détectés chez le patient. Ainsi, le premier objectif de ce chapitre est d'établir une caractérisation du phénotype général de ce modèle à 4 mois (stade présymptomatique) afin de s'assurer de sa validité et de sa correspondance avec la symptomatologie humaine. Ensuite, différents tests seront réalisés pour évaluer toutes les facettes du comportement émotionnel et leur évolution en fonction des différents stades de la MH.

Le comportement émotionnel est l'un des plus complexes à étudier aussi bien chez l'Homme que chez l'animal. En effet, le processus émotionnel a été décrit précédemment, mais il existe plus d'une centaine de définitions du terme « émotion ». L'étude de Kleinginna et Kleinginna (Kleinginna & Kleinginna, 1981) a eu pour objectif d'analyser ces définitions afin d'en tirer un consensus. Ils proposent alors la définition suivante : « Les émotions sont le résultat de l'interaction de facteurs subjectifs et objectifs, réalisés par des systèmes neuronaux ou endocriniens, qui peuvent :

- a) Induire des expériences telles que des sentiments d'éveil, de plaisir ou de déplaisir.
- b) Générer des processus cognitifs tels que des réorientations pertinentes sur le plan perceptif, des évaluations, des étiquetages.
- c) Activer des ajustements physiologiques globaux.
- d) Induire des comportements qui sont, le plus souvent, expressifs, dirigés vers un but et adaptatifs ».

Dans cette définition, 3 composantes semblent inhérentes à l'émotion : la composante cognitive, la composante physiologique et la composante comportementale. C'est

principalement à travers l'étude de cette dernière composante que le phénotype des rats BACHD a été caractérisé.

Il existe une distinction entre les émotions dites primaires ; c'est-à-dire la joie, la surprise, le dégoût, la tristesse, la colère et la peur, et les émotions dites secondaires telles que la jalousie, la honte, la haine, l'euphorie ou encore l'anxiété. Si les premières sont universelles et sont retrouvées non seulement chez l'Homme, mais également chez la plupart des vertébrés, les secondes sont plus difficilement observables et seraient le résultat de l'association des émotions primaires avec d'autres facteurs. Cette seconde catégorie d'émotions est parfois nommée « affect » ou encore « sentiment ». Ce sont souvent des états moins intenses que ceux induits par les émotions primaires, mais qui peuvent perdurer dans le temps et qui peuvent se manifester en l'absence de l'objet ou de la situation sur lesquelles ils ont été construits initialement. Une autre différenciation est faite entre les émotions et la motivation. En effet, il est admis que ces deux notions influent sur le comportement, cependant, alors que les émotions sont déclenchées par des stimuli environnementaux, la motivation est davantage générée par des causes internes à l'organisme.

Dans cette étude, l'objectif est de répertorier les troubles émotionnels des rats BACHD et de les comparer aux symptômes dont souffrent les patients. Si, chez les patients MH, ces troubles touchent les émotions à valence positive (difficulté de reconnaissance d'expression de joie, épisode maniaque ...), ils exacerbent cependant plus communément les émotions à valence négative (anxiété, dysphorie, agressivité ...). C'est pourquoi la caractérisation du phénotype émotionnel de ce modèle est réalisée à travers l'analyse des comportements émotionnels à valence négative, ce qui évite également, chez l'animal, la difficile distinction entre émotion et motivation. Finalement, pour appréhender correctement les résultats comportementaux obtenus, il est important de définir et de distinguer ces comportements à valence négative.

Les comportements de peur : la peur est une des émotions primaires qui s'exprime généralement en présence d'un danger afin de permettre à l'organisme de mobiliser les ressources nécessaires pour y faire face de façon adaptée et immédiate. Le plus souvent, cela se traduit par une augmentation des rythmes cardiaque et respiratoire, par une tension musculaire, mais aussi par une immobilité, où l'organisme se fige et où ses sens sont à un niveau attentionnel élevé. Ces comportements sont en grande partie induits par une libération d'adrénaline et ils permettent de répondre de façon adaptée aux différents types de menaces : fuite, combat ou encore « freezing » (immobilité comportementale) chez les animaux de proies, comme le rat.

Les comportements d'anxiété : l'anxiété fait partie des émotions dites secondaires, car elle peut survenir sans la présence d'un stimulus menaçant. En effet, contrairement à la peur qui engendre les comportements de fuite ou d'évitement, l'anxiété se manifeste lors de situations perçues comme inévitables (Ohman, 2000). De plus, c'est un état anticipatoire, où l'individu, ou l'animal, s'attend à un évènement négatif futur, contrairement à la peur où la menace est présente. D'un point de vue comportemental, cela se traduit par des troubles de la concentration, de l'irritabilité ou encore par une agitation.

II) Phénotypage des rats BACHD âgés de 4 mois

A) Procédures expérimentales

1) Animaux

Les tests qui suivent sont réalisés sur un groupe de 23 rats, composé de 12 rats WT et 11 rats BACHD, âgés de 4 mois. La colonie des rats BACHD et des rats WT des mêmes portées est maintenue dans l'animalerie d'Orsay dans un cycle jour/nuit de 12/12h, avec un accès à l'eau et à la nourriture *ad libitum*. Toutes les expériences expérimentales et les procédures de soins sont décrites et approuvées dans l'autorisation de projet n°0237704 du MENESR (ministère de l'Éducation nationale, de l'enseignement supérieur et de la recherche).

2) Tests comportementaux

Quatre tests sont réalisés dans le but de caractériser le phénotype des rats BACHD : deux tests mesurant l'activité locomotrice et le tonus musculaire des animaux (le test du couloir circulaire et le test du cintre) et deux autres tests mesurant l'anxiété (le test de l'Open Field (OF) avec objet nouveau et le test du labyrinthe en croix surélevé).

- **Activité et réactivité locomotrice : test du couloir circulaire**

L'activité locomotrice des rats est mesurée dans un couloir circulaire (14 cm) formé par un cylindre de 40 cm de diamètre, inclus dans un autre cylindre de 70 cm de diamètre (Fig. 17). Quatre cellules infrarouges disposées à 90° dans le couloir permettent de comptabiliser le nombre de quarts de tour réalisés par période de 10 minutes. L'appareil est relié à une interface, qui assure la mise en forme des signaux issus des capteurs infrarouges et permet la communication avec l'ordinateur sur lequel les données sont affichées et stockées.

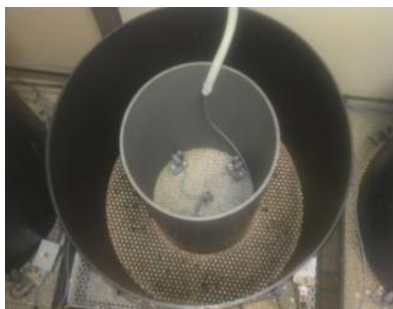


Figure 17: Photographie du couloir circulaire

- **Tonus musculaire : test du cintre**

Chaque animal est accroché par ses pattes avant à une barre métallique horizontale (cintre) d'environ 4 mm de diamètre et placé à 60 cm du sol pendant 1 minute au maximum (Fig. 18). Le temps pendant lequel l'animal reste accroché avant de tomber est mesuré. Ce test permet de mesurer le tonus musculaire des animaux.



Figure 18: Photographie d'un rat exécutant le test du cintre

- **Réactivité à la nouveauté : Open Field avec objet nouveau**

L'OF est une arène (1m de largeur x 1m de longueur x 50cm de hauteur) placée dans une pièce avec un faible éclairage. L'OF est quadrillé afin de définir plusieurs zones, notamment une zone interne qui comprend le centre de l'OF et une zone externe correspondant à la périphérie (Fig. 19). Le système de vidéo tracking Any-maze permet d'enregistrer les paramètres d'intérêt tels que l'activité locomotrice des animaux (par la mesure de la distance totale parcourue), l'anxiété (par la mesure du temps passé en périphérie par rapport au centre de l'OF) ou encore la réactivité à la nouveauté (mis en évidence par le temps passé à renifler un objet nouveau placé au centre de l'OF).

Lors du premier jour, le rat est placé dans un coin de l'OF et la distance totale parcourue est enregistrée pendant 5 minutes. Le jour suivant l'exploration de l'OF, un objet inconnu est placé au centre de l'arène (Fig. 19). La distance parcourue ainsi que le temps passé à renifler l'objet sont enregistrés pendant 5 minutes.



Figure 19: Photographie de l'Open Field contenant l'objet nouveau au centre

- **Test d'anxiété : le labyrinthe en croix surélevé**

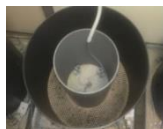
Ce labyrinthe est constitué de 2 bras fermés et de 2 bras ouverts en PVC noir, le tout surélevé au-dessus du sol (50x11cm, surélevé à 60cm du sol) (Fig. 20). Les parois des bras fermés forment un espace clos et sombre (2 lux), alors que les bras ouverts forment un espace ouvert et éclairé (243 lux). Ce test permet de mesurer le niveau d'anxiété chez le rongeur. En effet, plus un animal est anxieux et plus il a tendance à préférer les endroits clos et sombres (les bras fermés). Les rats sont placés au centre du labyrinthe et le nombre d'entrées ainsi que le temps passé dans chaque bras du labyrinthe (fermés ou ouverts) sont enregistrés pendant 10 minutes. La prise de risque est également prise en compte, représentée par la durée moyenne de chaque visite des bras ouverts (temps passé dans les bras ouverts / nombre d'entrées dans les bras ouverts) : plus la durée des visites des bras ouverts est longue, plus les animaux prennent des risques.



Figure 20: Photographie du labyrinthe en croix surélevé

B) Résultats

1) Activité et réactivité locomotrice : couloir circulaire



Le nombre de quarts de tour reflète la distance parcourue. Cette distance parcourue diminue au cours du temps pour les deux groupes ($F(5,105)=58,39$, $p<0.001$) (Fig. 21). La différence d'activité entre les rats BACHD et les rats WT n'atteint pas le seuil de significativité ($F(1,21)=1,50$, ns). Cependant, l'activité motrice des deux groupes évolue différemment au cours du temps, ce qui est montré par l'interaction génotype X temps ($F(5,105)=2,45$, $p<0.05$). Les animaux BACHD parcourent plus de distance au cours des 10 premières minutes que les animaux WT ($F(1,21)=6,52$, $p<0,05$).

Ainsi, les rats BACHD montrent une hyper-activité locomotrice en début de séance. Cet effet pourrait être dû à la découverte de leur nouvel environnement et donc cette hyper-activité peut-être, en réalité, une hyper-réactivité face à la nouveauté.

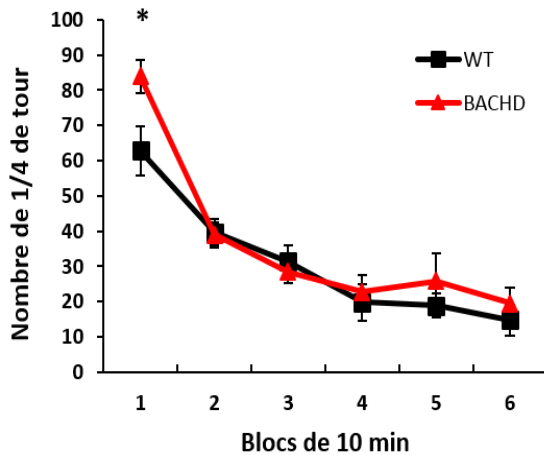


Figure 21 : Test du couloir circulaire

Nombre de quarts de tour effectués par le rat dans le couloir circulaire par tranches de 10 minutes.

2) Tonus musculaire : cintre



Au cours de ce test, les rats BACHD lâchent plus rapidement la barre horizontale que les rats WT ($t=0,048$) (Fig. 22), indiquant un tonus musculaire plus faible chez ces animaux que chez les rats WT. Il est également possible que cette latence plus courte soit le reflet d'une plus faible motivation à rester accrochée à la barre horizontale, témoignant alors d'un « désespoir comportementale ».

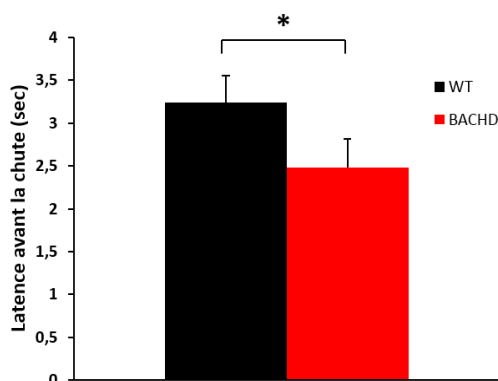


Figure 22 : Test du cintre

Latences de chute en secondes.

3) Réactivité à la nouveauté : open field avec objet



Pendant l'habituation, les rats BACHD parcourent un peu moins de distance que les rats WT, suggérant une légère hypo-activité ($F(1,21)=4,63$, $p<0,05$) (Fig. 23 A, à gauche). Lorsque l'objet nouveau est introduit dans l'OF (Fig. 23 A, à droite), les rats BACHD parcourent plus de distance que les rats WT ($F(1,21)=15,84$, $p<0,001$). De plus, l'interaction génotype x période ($F(1,21)=39,08$, $p<0,001$) indique une hyper-réactivité locomotrice chez les rats BACHD à l'introduction de l'objet par rapport aux rats WT. De même, les rats BACHD passent plus de temps à renifler l'objet que les rats WT ($t=0.0002$), indiquant encore une hyper-réactivité face à la nouveauté par rapport aux animaux WT (Fig. 23 B).

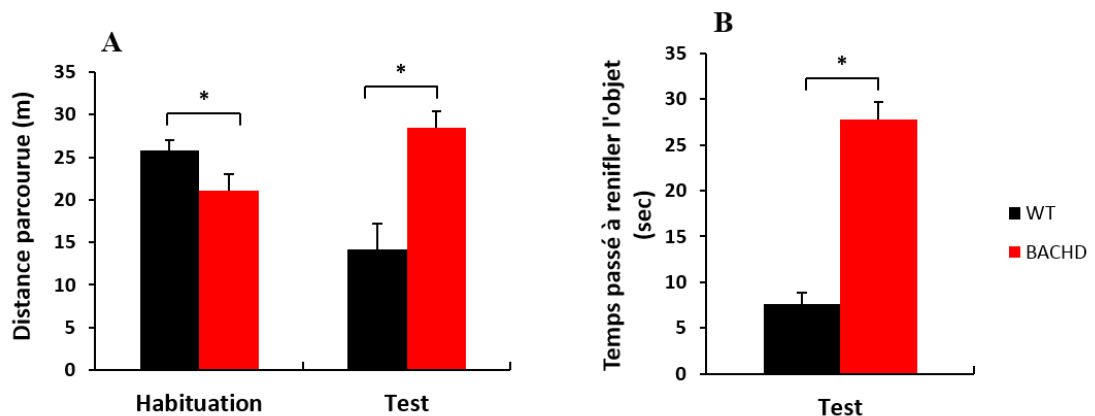


Figure 23 : Test de l'open field avec objet

A : Distance parcourue (en mètre) dans l'OF pendant la phase d'habituation (à gauche) et pendant la phase de test (à droite).

B : Temps passé (en seconde) à renifler l'objet placé au centre de l'OF pendant la phase de test.

4) Test d'anxiété : labyrinthe en croix surélevé



Dans ce test, il n'y a pas de différence d'activité locomotrice entre les rats BACHD et les rats WT, la distance parcourue est la même ($t= 0,49$) (Fig. 24 A). Cependant, les animaux BACHD passent plus de temps dans les bras ouverts que les animaux WT ($t= 0,009$), ce qui semble indiquer une hypo-anxiété chez ces animaux (Fig. 24 B). De plus, la durée moyenne de chaque visite des bras ouverts est significativement plus grande chez les rats BACHD que chez les rats WT ($t= 0,01$), indiquant une plus grande prise de risque chez ces animaux (Fig. 24 C).

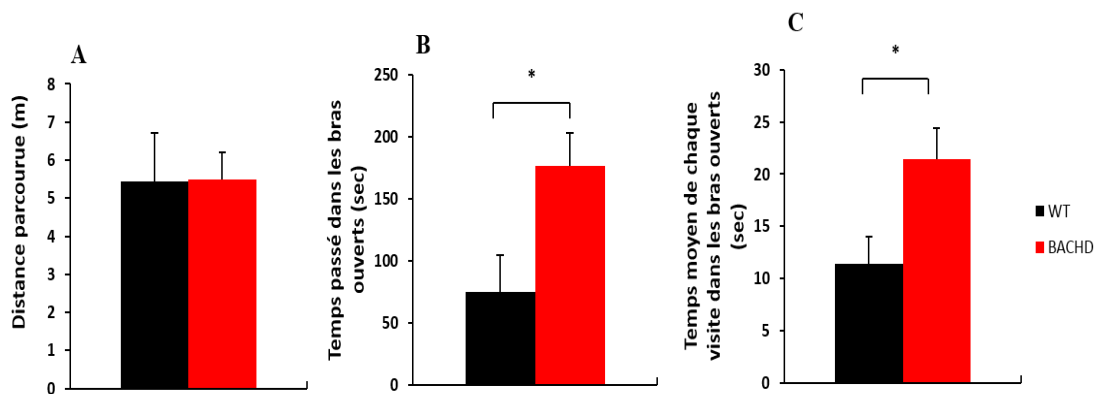


Figure 24 : Test du labyrinthe en croix surélevé

A : Distance parcourue (en mètre) dans le labyrinthe.

B : Temps passé (en seconde) dans les bras ouverts du labyrinthe.

C : Temps passé moyen (en seconde) dans les bras ouverts à chaque visite (prise de risque = temps passé dans les bras ouverts total / nombre de visite des bras ouverts).

Conclusion : phénotypage des rats BACHD âgés de 4 mois

Au niveau moteur, ce modèle présente une hypo-activité initiale (moins de distance parcourue durant la phase d'habituation de l'OF), ainsi qu'un faible tonus musculaire (latence plus faible dans le test du cintre) et/ou une tendance à la dépression.

Au niveau émotionnel, ces animaux semblent également présenter quelques troubles dès 4 mois.

- Une réactivité locomotrice augmentée par rapport aux rats WT dans un contexte nouveau (augmentation de la locomotion dans les 10 premières minutes du test du couloir circulaire) ou lors de la présentation d'un stimulus nouveau dans un environnement connu (introduction d'un objet nouveau dans l'OF).
- Le niveau d'anxiété semble également altéré dans ce modèle : les rats BACHD présentent une hypo-anxiété dans le test d'EPM (plus de temps passé dans les bras ouverts) associée à une plus grande prise de risque. Ce résultat suggère une désinhibition comportementale.

Cependant, le test de l'EPM ne permet pas à lui seul de caractériser précisément l'état anxieux de ces animaux transgéniques. En effet, comme il a été expliqué plus haut, l'anxiété est un trait émotionnel difficile à analyser et à interpréter. Il est très variable d'un individu à un autre, car il ne s'exprime pas de la même façon selon les individus et selon la situation. C'est pourquoi, afin d'avoir une idée plus précise du phénotype émotionnel de ce modèle BACHD en fonction des étapes de la maladie, d'autres tests, principalement impliqués dans la mesure de l'anxiété, sont réalisés à différents âges des animaux BACHD et WT.

III) Phénotypage émotionnel et cognitif du modèle BACHD en fonction de l'âge

A) Procédures expérimentales

1) Animaux

Tous les tests expérimentaux suivants sont réalisés sur 3 groupes de rats indépendants d'âges différents :

- Les plus jeunes ont commencé les tests à 4 mois. Ce groupe est constitué d'une cohorte de 20 rats mâles BACHD et de 20 rats mâles WT.
- Dans le second groupe, les rats sont âgés de 12 mois lors du premier test. Il y a 8 rats mâles BACHD et 10 rats mâles WT.
- Enfin, dans le dernier groupe, les rats ont 18 mois au début des tests. 10 rats mâles BACHD et 14 rats mâles WT sont présents dans ce groupe.

Tout comme le groupe précédant, la colonie de ces rats BACHD et des rats WT des mêmes portées est développée et maintenue à Orsay dans un cycle jour/nuit de 12/12h, avec un accès à l'eau et à la nourriture *ad libitum*. Les rats sont placés 2 par cages avec une mixité de génotypes. Toutes les expériences et les procédures de soins sont décrites et approuvées dans l'autorisation de projet n°0237704 du MENESR (ministère de l'Éducation nationale, de l'enseignement supérieur et de la recherche).

2) Tests comportementaux

Tous les rats effectuent la batterie de tests, décrite ci-après : (1) Test de réactivité sensorimotrice : test du réflexe de sursaut (1 journée) ; (2) Tests d'anxiété : interaction sociale (1 journée), test de la boîte claire/obscur (1 journée), test du conflit (2 jours) ; (3) Test de conditionnement classique aversif (test de peur conditionnée, 4 jours) et appétitif (test d'orientation à un stimulus conditionné, 5 jours).

- **Test de la réactivité sensorimotrice**

Le réflexe du sursaut permet de mesurer la réactivité sensorimotrice des rats lors de la présentation d'un son fort. L'inhibition du réflexe de sursaut par la présentation préalable d'un stimulus de faible intensité (pré-son) est une mesure opérationnelle de filtrage sensorimoteur

qui apparaît normalement chez les sujets sains (Graham, 1975). Ce processus permet de négliger certains stimuli de manière à focaliser l'attention, et à répondre à des stimuli de l'environnement plus saillants ou plus pertinents (Fig. 25).

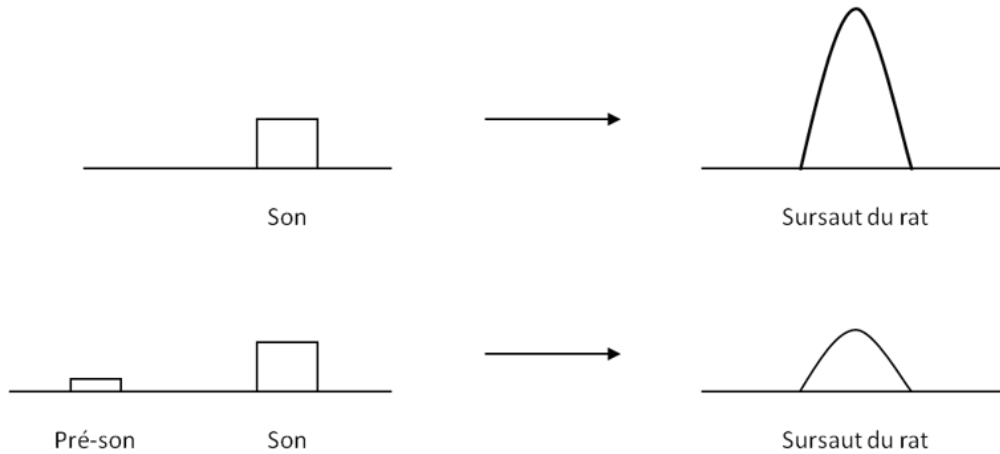


Figure 25 : Représentation schématique du phénomène d'inhibition du sursaut par la présentation d'un pré-pulse

Dans ce protocole, la réaction de sursaut en réponse à un stimulus fort et bref, ainsi que la capacité d'inhibition de ce sursaut par un son faible présenté avant le stimulus fort sont mesurées. Plus précisément, le dispositif expérimental est constitué d'une boîte en plexiglas entourant une plateforme posée sur une balance (Fig. 26). Ce système mesure les déviations de poids du rat au cours du sursaut et les transmet au logiciel d'acquisition sous forme de signal électrique, proportionnel à la force du sursaut. Le réflexe de sursaut du rat est obtenu en générant le son fort, délivré par des haut-parleurs.

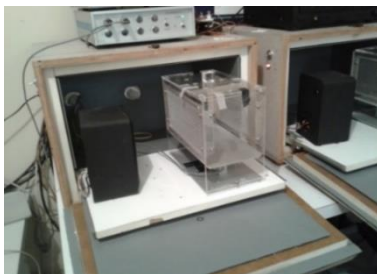


Figure 26 : Photographie du dispositif du test du sursaut

La session se compose de six blocs d'essais, répétés neuf fois afin de faire varier aléatoirement l'intervalle inter-essais (ITI : 8s, 10s, 12s, 14s, 15s, 16s, 18s, 20s, 22s). Un bruit de fond de 64dB est présent. Le son fort est un bruit blanc de 115dB et de 50 ms de durée. Le son faible est un son pur (3000Hz) de 70dB qui se termine toujours 20 ms avant le pulse. Chaque bloc d'essais est composé de 6 sons forts : un présenté seul (sursaut seul) et cinq précédés du son faible de durée variable (5ms, 20ms, 60ms, 80ms, 100ms).

- Tests d'anxiété

Interaction sociale : dans ce test, il est classiquement admis que plus l'animal passe de temps avec le rat étranger introduit dans une arène à laquelle il a été habitué, moins il est anxieux. Ce test se déroule en deux phases : une phase d'habituation où deux cages vides (20cm de longueur x 15cm de largeur x 14cm de hauteur) sont placées de chaque côté d'un OF (1m de largeur x 1 m de longueur x 50 cm de hauteur) (contre les bords externes). Les rats sont placés un par un dans l'OF et peuvent l'explorer pendant 5 minutes. Afin de mesurer l'activité des rats, le logiciel Any-maze est utilisé. La distance parcourue par le rat et le temps de reniflement des petites boîtes sont ainsi enregistrés. Vient ensuite la phase de test : le rat est retiré de l'OF et des legos de couleurs (objets) sont placés dans une cage, alors qu'un rat étranger (inconnu des rats testés) est placé dans l'autre cage. Le rat est replacé dans l'OF durant 10 min (Fig. 27). Le temps passé à interagir avec le congénère étranger ou avec l'objet nouveau est alors mesuré, ainsi que la distance parcourue. Plus précisément, afin de mesurer réellement l'impact de l'introduction du congénère et des objets sur l'activité locomotrice, le pourcentage d'augmentation ou de diminution de la distance parcourue pendant le test par rapport à celle lors de la phase d'habituation est calculé ((distance parcourue pendant le test / distance parcourue pendant l'habituation) x 100). Dans ce test, l'intensité lumineuse est d'environ 50 lux en périphérie et 70 lux au centre.



Figure 27 : Photographie du dispositif d'interaction sociale

En haut : boîtes contenant les objets (à gauche) ou le rat congénère (à droite).

En bas : lors du test, le rat explore l'OF avec les boîtes contenant les objets et le rat congénère.

Test de la boîte claire/obscur : ce test permet également d'étudier l'anxiété des animaux. En effet, les rats étant des animaux nocturnes, la lumière est pour eux une source d'anxiété. Le test se déroule dans un OF (50cm de largeur × 50cm de longueur × 40cm de hauteur) divisé en deux compartiments : un compartiment sombre fermé et un compartiment ouvert éclairé (Fig. 28). L'intensité lumineuse est de 40 lux dans la partie éclairée et 2 lux dans le compartiment noir. Les rats sont d'abord placés dans le compartiment sombre contenant une ouverture vers le compartiment éclairé. La latence de la première sortie, ainsi que le temps passé dans le compartiment éclairé sont alors mesurés pendant 10 minutes.

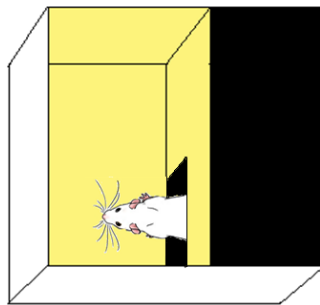


Figure 28 : Représentation schématique de la boîte claire/obscur

Le test du conflit est également une façon d'étudier le comportement anxieux des rats. Il s'agit d'analyser le conflit créé entre une motivation appétitive et un contexte anxiogène. Pour cela, la latence mise pour aller consommer une nourriture appétante (lait concentré sucré) placée au centre d'un OF éclairé est mesurée. Ce test se déroule en deux phases. Le premier jour a lieu la phase d'habituation : le rat est placé dans un OF circulaire noir (1m de diamètre) où 2 zones peuvent être observées : une zone périphérique rassurante pour le rat (intensité lumineuse : 25 lux) et une zone centrale qui est un espace ouvert anxiogène (intensité lumineuse : 90 lux). Le rat peut explorer cet environnement pendant 10 minutes. La phase de test a lieu le deuxième jour. Une surface blanche est placée sur le sol au centre de l'OF, sur laquelle est disposée une coupelle de lait concentré sucré (les rats sont maintenus sous restriction alimentaire 2 jours avant le test (10g/jour/rat) et du lait concentré sucré avait au préalable été présenté aux rats dans leur cage, afin d'éviter les biais de néophobie et assurer une forte valeur appétitive). Le rat est alors placé dans l'OF (au niveau du bord) pendant 10 minutes (Fig. 29). Le logiciel Any-maze est utilisé afin de mesurer la latence de consommation du lait concentré, ainsi que la distance parcourue. De la même façon que dans le test d'interaction sociale, la mesure de l'impact de l'introduction de la récompense au centre de l'OF

sur l'activité locomotrice est calculée ((distance parcourue pendant le test / distance parcourue pendant l'habituation) x 100).



Figure 29 : Photographie du test du conflit pendant la phase de test avec la coupelle de lait concentré sucré placé au centre de l'OF

- Tests de conditionnement classiques : aversif et appétitif

Le test de peur conditionnée est un test de conditionnement pavlovien aversif qui consiste à associer un stimulus conditionnel (SC, ici un son), au départ neutre, à un stimulus inconditionnel (SI) à valence négative (ici un choc électrique) afin que la seule présentation du SC soit suffisante pour induire la réponse conditionnée de peur (RC, ici le freezing). Dans ce test, il est alors possible de mesurer et de comparer le taux de freezing des animaux aussi bien au contexte qu'au SC. Une boîte de Skinner (Coulbourn ; 34,3 cm de hauteur x 50,8 cm de largeur x 34,3 cm de profondeur) est nécessaire pour ce test. Elle contient une grille sur le sol, permettant de délivrer des chocs électriques (SI), ainsi qu'un haut-parleur pour la diffusion d'un son (SC). Une lumière d'ambiance reste allumée durant toute la session. Ce test se déroule sur 4 jours consécutifs (Fig. 30) :

- Jour 1 : conditionnement. Le rat est placé dans la boîte de Skinner avec la grille, le haut-parleur et une lumière rouge d'ambiance (contexte A). Après 3 minutes d'habituation à ce contexte, 5 essais, composés du son (SC) de 30sec (4 KHz, 80 dB) suivi d'un choc électrique (SI) de 0,5sec (0,8A), sont donnés au rat avec un ITI de 4 minutes en moyenne. Après le dernier essai, le rat reste dans la boîte 3 minutes supplémentaires.
- Jours 2 et 3: extinction dans un autre contexte. Le rat est placé dans la boîte de Skinner modifiée (sol plein, un des coins de la boîte a été coupé avec une planche afin de changer la conformation du lieu, lumière d'ambiance verte et odeur de menthe poivrée présente) (contexte B). Dans ce nouveau contexte, 16 présentations du SC (sans choc) sont délivrées au rat avec un ITI de 2 minutes en moyenne.

- Jour 4 : les rats sont de nouveau placés dans le contexte A pendant 10 minutes sans qu'aucun SC ou SI ne soit délivré. À la fin de ces 10 minutes, 3 SC sont présentés (sans choc) avec un ITI de 4 minutes.

Lors des jours 2, 3 et 4, une caméra filme le comportement des rats afin de mesurer leurs taux de freezing dans les différentes conditions (SC ou contexte).

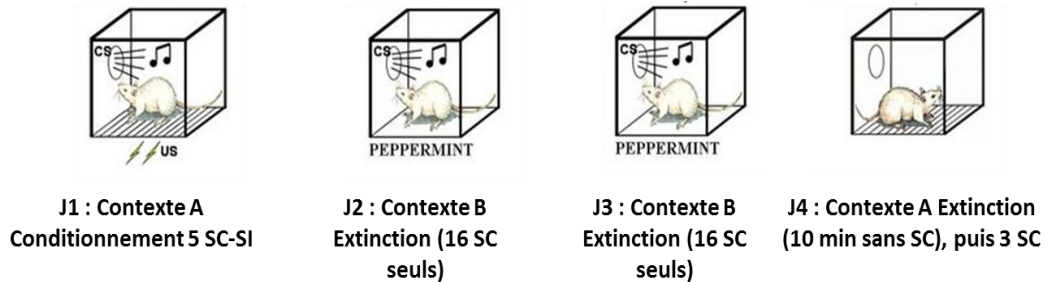


Figure 30 : Schéma récapitulatif du protocole de peur conditionnée

Le test d'orientation à un stimulus conditionné est un test de conditionnement pavlovien appétitif. En effet, lorsqu'un stimulus est associé à une récompense, deux types de réponses conditionnées peuvent apparaître : une réponse d'orientation (RO) dirigée vers le SC et une réponse de recherche de la récompense. Ces réponses déterminent deux types de profils d'animaux qui sont les « sign-tracker » qui développent des réponses conditionnées d'orientation vers le SC et les « goal-tracker » qui développent des réponses d'orientation vers la mangeoire où est distribuée la nourriture. Le comportement de sign-tracker est déterminé lorsque le rat se redresse sur ses pattes arrière en direction du SC (Fig. 31). Le comportement de goal-tracker, quant à lui, peut être mesuré de deux façons différentes : soit directement par la détection du museau du rat dans la mangeoire (mesure du nombre d'entrées dans la mangeoire), soit par une RO dirigée vers la mangeoire, c'est-à-dire lorsque le rat se positionne devant la mangeoire (les quatre pattes au sol) et le museau proche de la mangeoire. Les résultats de ces deux types de mesures n'étant pas significativement différents, et par souci de cohérence avec la mesure des RO dirigées vers le SC, les résultats reflétant le comportement de goal-tracker sont ceux mesurés par une RO dirigée vers la mangeoire.

Cinq jours sont nécessaires pour ce test :

- Jour 1 : Habituation. Le rat est placé dans une boîte de Skinner contenant seulement une lumière d'ambiance rouge qui reste allumée durant toute la séance, ainsi qu'une autre ampoule permettant de diffuser une lumière blanche. La séance d'habituation

est composée de 8 essais, avec un ITI de 4 minutes en moyenne, où la lumière blanche est diffusée pendant 10 secondes à chaque fois.

- Jour 2 : Entraînement mangeoire. Les rats sont entraînés à récupérer de la nourriture dans la mangeoire. 16 récompenses, constituées de 2 pellets de sucrose aromatisés au chocolat, sont délivrées avec un ITI moyen de 4 minutes. Afin de renforcer l'effet appétent de ces pellets, tous les rats sont maintenus sous privation alimentaire et stabilisés à 85% de leur poids initial.
- Jours 3 à 5 : Conditionnement pavlovien lumière-nourriture. À la fin de chaque stimulus lumineux de 10 secondes (SC), 2 pellets de chocolat sont délivrés dans le magasin (SI). La séance se compose de 16 SC-SI avec un ITI moyen de 4 minutes.

Durant toutes les séances, une caméra filme le comportement du rat afin qu'il puisse être analysé par la suite.

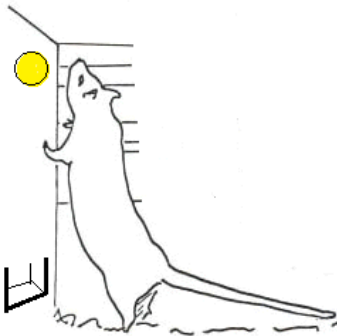
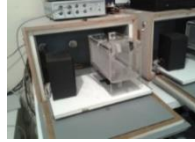


Figure 31 : Représentation schématique du comportement de « sign-tracker » pendant lequel le rat se redresse en direction du CS

B) Résultats

1) Réactivité sensorimotrice



Lors de la présentation d'un son fort et bref, l'amplitude du sursaut est mesurée. Les résultats de cette mesure ne montrent aucune différence entre les génotypes (Fig. 32 A). En effet, à chaque âge, les rats WT et BACHD ont une amplitude de sursaut similaire. Cependant, un effet de l'âge est visible : les rats WT ($F(2,41)=24,67$, $p<0,001$) et les rats BACHD ($F(2,35)=25,20$, $p<0,001$) de 4 mois ont une amplitude de sursaut plus faible que celle des rats plus âgés.

Quand un son faible est présenté 20 ms avant le son fort (pré-pulse, PP), cela a pour conséquence d'inhiber l'amplitude du sursaut induit par le pulse. La mesure du pourcentage d'inhibition est calculée en fonction de la durée du PP (Fig. 32 B). Les résultats ne montrent aucune différence significative entre les génotypes à chaque âge (4 mois : $F(1,38)=0,97$, ns ; 12 mois : $F(1,16)=0,09$, ns ; 18 mois : $F(1,22)=2,12$, ns). Cependant, à 4 mois les animaux ne présentent pas la même évolution du pourcentage d'inhibition du sursaut en fonction de la durée du PP, ce qui est montré par l'interaction génotype x durée du PP ($F(4,152)=2,74$, $p<0,05$). De plus, il est à noter que l'optimum d'inhibition du sursaut a lieu pour un PP de 60 ms pour tous les groupes.

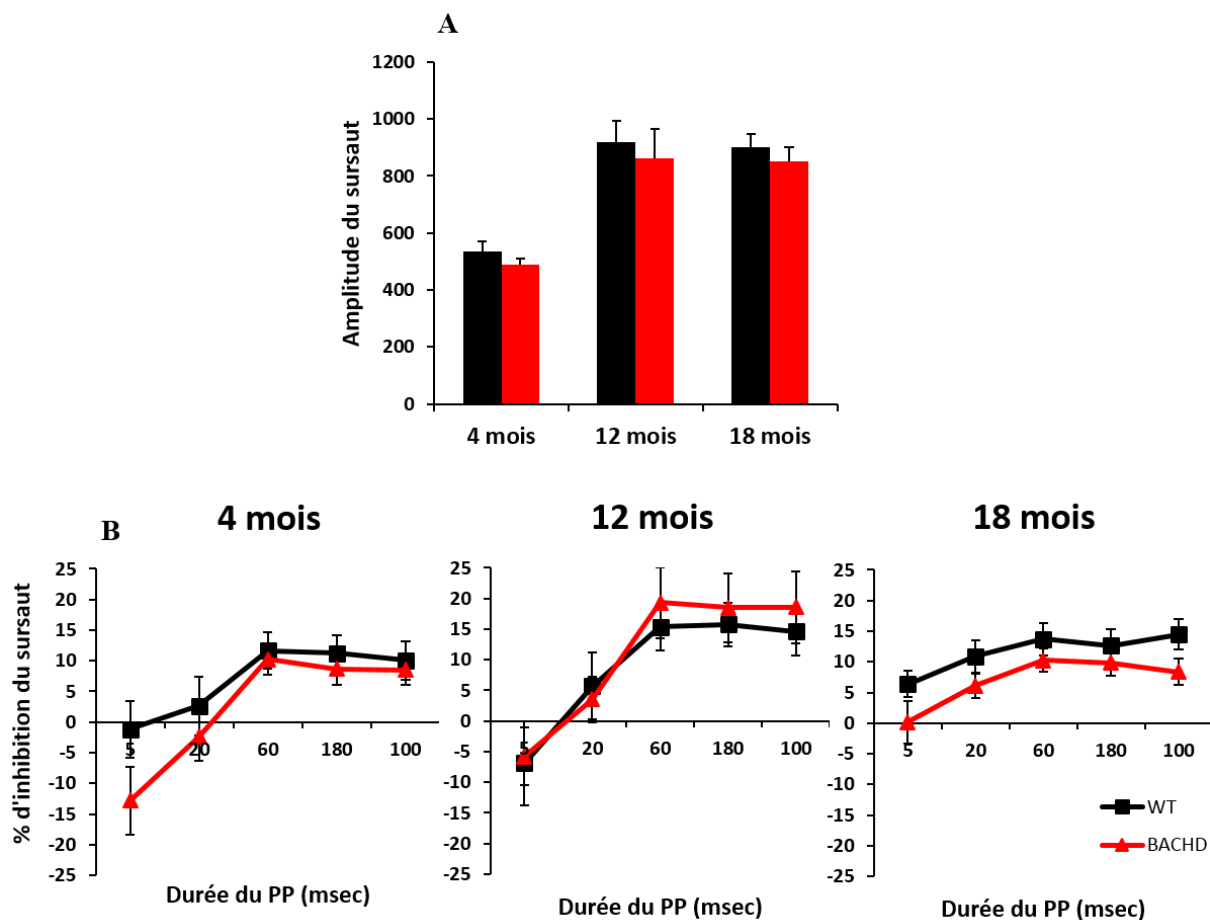


Figure 32 : Test du sursaut

À : Amplitude du sursaut au son seul (pulse) en fonction des 3 âges.

B : Pourcentage d'inhibition du sursaut en fonction de la durée du son faible (PP) chez les 3 groupes d'âge.

Conclusion : réactivité sensorimotrice et capacité d'inhibition

- Le test du sursaut mesure la réactivité du rat face à un stimulus. Les résultats indiquent que le réflexe de sursaut des animaux transgéniques BACHD n'est pas altéré par rapport aux animaux WT, quel que soit l'âge des animaux et bien que les animaux jeunes aient un sursaut plus faible que les plus âgés.
- La mesure de l'inhibition du réflexe de sursaut montre que seuls les rats BACHD de 4 mois présentent un profil d'inhibition différent, indiquant une légère diminution du filtrage sensorimoteur à cet âge.

2) Tests d'anxiété

- Interaction sociale



Pendant la phase d'habituation (Fig. 33 A), les rats BACHD parcourent globalement moins de distance que les rats WT ($F(1,76)=8,54, p<0,01$). Cette différence est particulièrement visible à l'âge de 18 mois ($F(1,22)=8,99, p<0,01$). Pendant la phase de test (Fig. 33 B), lors de l'introduction du congénère et des objets, les rats BACHD parcourent également moins de distance que les rats WT ($F(1,76)=5,93, p<0,05$). Cette différence est significative chez les rats de 12 mois ($F(1,16)=5,46, p<0,05$) et ceux de 18 mois ($F(1,22)=30,61, p<0,001$). D'autre part, plus les rats BACHD vieillissent et moins ils parcourent de distance (WT : ($F(1,38)=0,57, ns$), BACHD : ($F(1,16)=5,46, p<0,05$)). Une comparaison de la distance parcourue pendant le test à celle relevée lors de la phase d'habituation montre qu'il n'y a pas de différence entre l'habituation et le test chez les animaux BACHD et WT, sauf pour les rats BACHD de 4 mois qui présentent une hyper-réactivité locomotrice lors de l'introduction du congénère et des objets ($F(1,19)=8,59, p<0,01$). Cette hyper-réactivité locomotrice est le reflet soit d'une habituation plus rapide des rats BACHD de 4 mois à l'OF comparée aux animaux plus âgés, soit d'une hyper-réactivité face à un nouvel élément que sont le congénère et les objets.

Dans le test d'interaction sociale, le temps passé à renifler le congénère étranger représente le niveau d'anxiété des animaux, où, classiquement, plus ce temps est long moins les animaux sont anxieux. Les résultats d'interactions (Fig. 33 C) sont représentés par la différence du temps passé à renifler les boîtes pendant la phase d'habituation (moyenne de reniflement des deux boîtes vides) moins le temps passé à renifler soit la boîte contenant les objets (à gauche), soit la boîte contenant le rat étranger (à droite), pendant la phase de test. Dans un premier temps, ces résultats montrent que les animaux passent plus de temps à renifler la boîte contenant le congénère que celle contenant les objets (WT : ($F(1,41)=30,30, p<0,001$), BACHD : ($F(1,35)=6,40, p<0,05$)). De plus, un effet de l'âge est visible ($F(2,76)=10,31, p<0,001$), plus les rats sont jeunes, plus ils délaissent la boîte contenant les objets au moment du test. Tous les animaux, mis à part les rats BACHD de 18 mois, interagissent plus avec la boîte contenant le rat étranger que lorsqu'elle était vide pendant la phase d'habituation (comparaison de la différence d'interaction, entre la phase de test et l'habituation, par rapport à aucune différence d'interaction entre les deux phases : 4 mois : WT ($t=0,002$), BACHD ($t=0,046$) ; 12

mois : WT ($t=0,030E^{-9}$), BACHD ($t=0,002E^{-3}$) ; 18 mois : WT ($t=0,017E^{-4}$), BACHD ($t=0.48$)). Il est également à noter que plus les rats vieillissent, plus ils reniflent le rat étranger ($F(2,76)=8,06$, $p<0,001$). Cependant, comme le montre l'interaction âge x génotype ($F(2,76)=3,85$, $p<0,05$), les rats BACHD n'interagissent pas de la même façon avec le rat étranger selon l'âge. En effet, à 18 mois, les rats BACHD ne s'intéressent pas spécifiquement au congénère par rapport à la boîte vide pendant l'habitation, contrairement aux rats WT du même âge ($F(1,22)=10,36$, $p<0,001$). Ces données suggèrent que seuls les animaux BACHD de 18 mois ont un niveau d'anxiété plus élevé que celui des animaux WT.

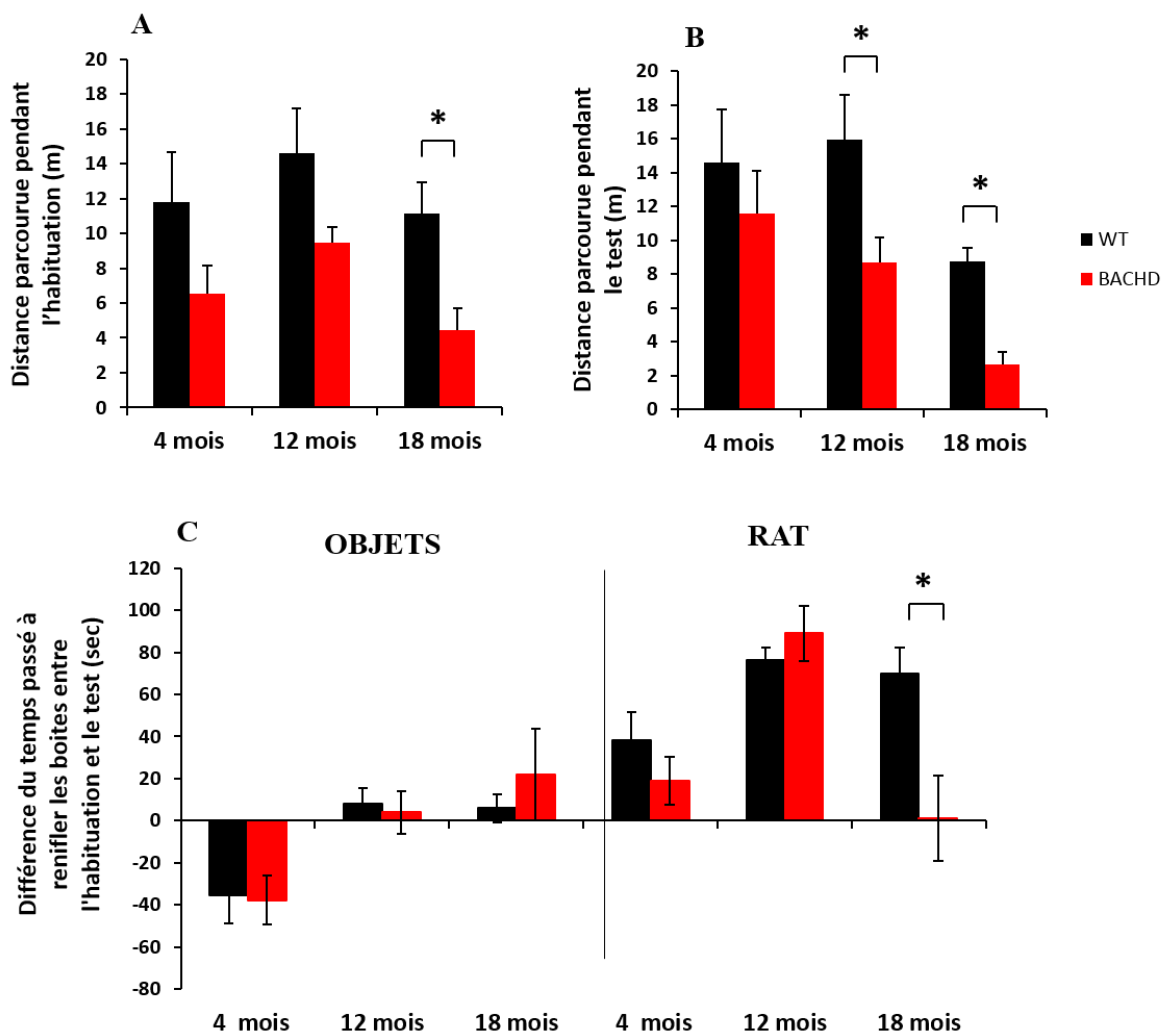


Figure 33 : Test de l'interaction sociale

A : Distance parcourue (en mètre) pendant la phase d'habitation dans l'OF.

B : Distance parcourue (en mètre) pendant la phase de test dans l'OF.

C : Différence du temps passé (en seconde) à renifler soit les objets (à gauche) soit le rat étranger (à droite) entre la phase d'habitation et la phase de test.

- **Test du conflit**



La distance parcourue pendant l'habitué (Fig. 34 A) diminue en fonction de l'âge, aussi bien pour les rats WT ($F(2,31)=13,30$, $p<0,001$) que pour les rats BACHD ($F(2,25)=34,65$, $p<0,001$). Cependant, cette diminution ne se fait pas de la même façon dans le groupe BACHD par rapport au groupe WT, ce qui est montré par l'interaction génotype x âge ($F(2,56)=4,13$, $p<0,05$). En effet, à 12 mois ($F(1,16)=13,60$, $p<0,001$) et à 18 mois ($F(1,22)=8,15$, $p<0,001$), les rats BACHD ont une activité locomotrice moindre que les rats WT. Le jour du test (Fig. 34 B), les rats WT ($F(2,31)=14,54$, $p<0,001$) et les rats BACHD ($F(2,25)=11,14$, $p<0,001$) parcourent également moins de distance en fonction de l'âge. De plus, la distance parcourue par les rats BACHD est moindre que celle parcourue par les rats WT ($F(1,56)=10,24$, $p<0,01$).

Les résultats de la latence de consommation (temps mis pour aller boire le lait concentré sucré placé au centre de l'OF) (Fig. 34 C) montrent une interaction génotype x âge ($F(2,56)=6,03$, $p<0,01$). Effectivement, un effet de l'âge est visible pour les rats BACHD ($F(2,25)=15,17$, $p<0,001$), alors qu'il n'y en a pas pour les rats WT. Ainsi, à 18 mois, les rats BACHD sont significativement plus lents pour aller boire le lait concentré que les rats WT du même âge ($F(1,22)=18,10$, $p<0,001$). Enfin, la durée de consommation (Fig. 34 D) est également différente entre les rats WT et les rats BACHD. Une interaction génotype x âge est visible ($F(2,56)=3,17$, $p<0,05$) indiquant un effet de l'âge chez les rats BACHD, mais pas chez les rats WT (WT : ($F(2,31)=0,86$, ns), BACHD : ($F(2,25)=11,04$, $p<0,001$)). À 18 mois, les rats BACHD passent significativement moins de temps à consommer le lait concentré sucré que les rats WT du même âge ($F(1,22)=6,63$, $p<0,05$).

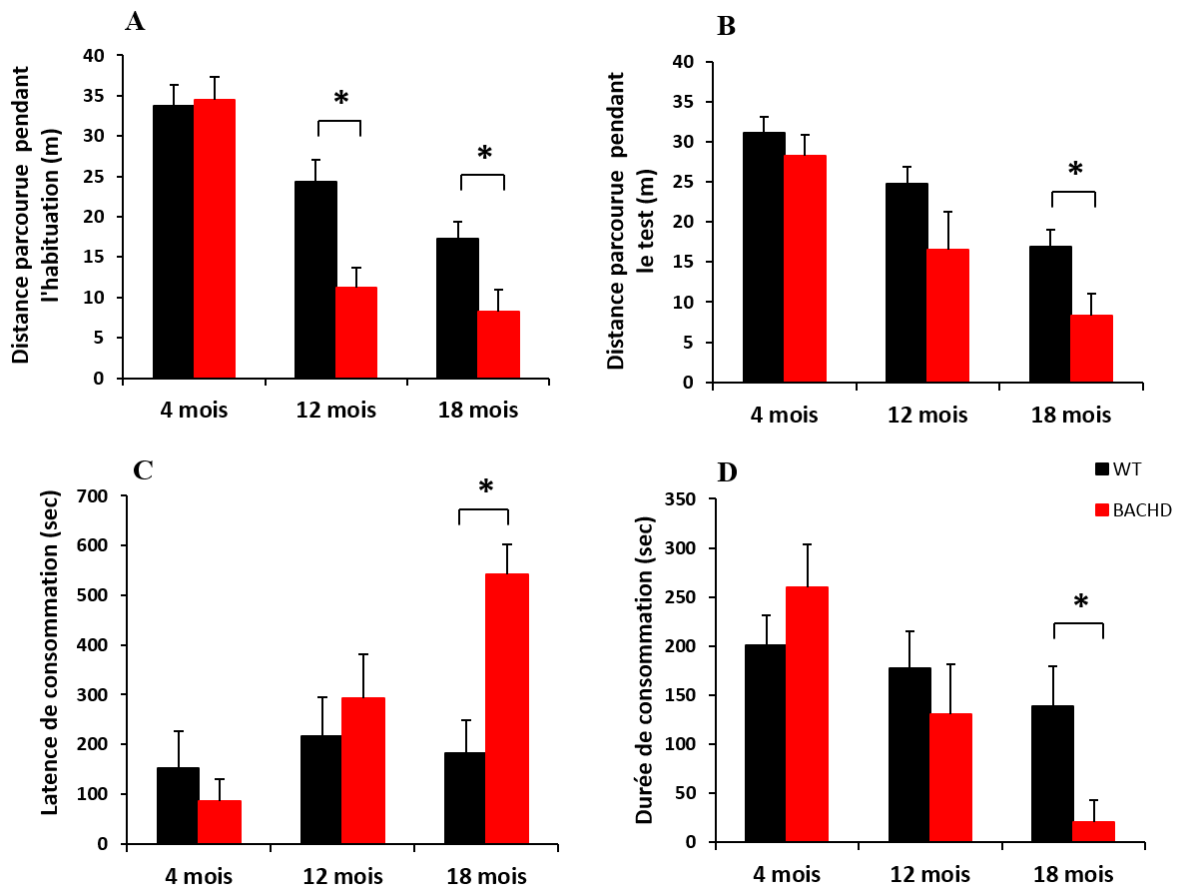


Figure 34 : Test du conflit

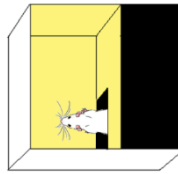
A : Distance parcourue (en mètre) pendant la phase d'habituatation dans le l'OF.

B : Distance parcourue (en mètre) pendant la phase de test dans le l'OF.

C : Latence (en seconde) de consommation du lait concentré sucré placé au centre de l'OF.

D : Durée (en seconde) de consommation du lait concentré sucré.

- **Test de la boîte claire/obscur**



La latence d'entrée dans le compartiment éclairé est positivement corrélée au niveau d'anxiété des rats : plus la latence est grande, plus les animaux sont anxieux. La figure 35 montre que la latence augmente avec l'âge quel que soit le génotype (WT : ($F(2,41)=11,19$, $p<0,001$) ; BACHD : ($F(2,35)=9,37$, $p<0,001$). Cependant, les rats BACHD ont une latence plus grande que les rats WT particulièrement à 4 mois ($F(1,38)=21,39$, $p<0,001$) et à 18 mois ($F(1,22)=5,77$, $p<0,05$).

Le temps total passé dans le compartiment éclairé est également un marqueur du niveau d'anxiété des rats. Les résultats montrent que plus les animaux vieillissent et moins ils restent de temps dans le compartiment éclairé, aussi bien chez les rats WT ($F(2,41)=35,78$, $p<0,001$) que chez les rats BACHD ($F(2,35)=9,19$, $p<0,001$). De façon cohérente avec les résultats de latence, les rats BACHD passent moins de temps dans le compartiment éclairé que les rats WT à 4 mois ($F(1,38)=41,18$, $p<0,001$), ainsi qu'à 12 mois ($F(1,16)=4,87$, $p<0,05$). À 18 mois, aucun rat BACHD n'est sorti visiter le compartiment éclairé.

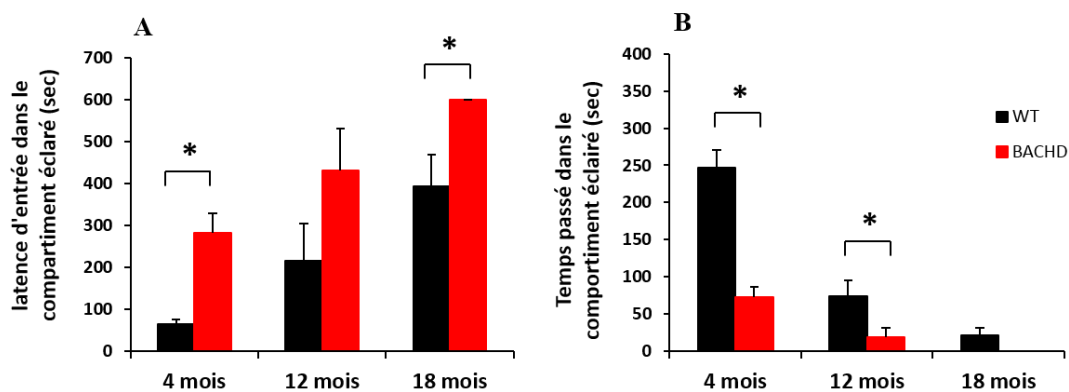


Figure 35 : Test de la boîte claire/obscur

A : Latence (en seconde) d'entrée dans le compartiment éclairé.

B : Temps passé (en seconde) dans le compartiment éclairé.

Conclusion : Tests d'anxiété

- Activité et réactivité locomotrice :

Dans un premier temps, il est à noter que l'évolution de l'âge semble avoir un impact négatif sur l'activité locomotrice. En effet, que ce soit chez les rats WT ou chez les rats BACHD, une diminution de la distance parcourue avec l'âge est visible dans le test de l'interaction sociale et dans celui du conflit. D'autre part, le génotype semble également avoir un impact sur cette activité locomotrice puisqu'elle est diminuée chez les rats BACHD par rapport aux rats WT à partir de 12 mois. Pour finir, seuls les rats BACHD semblent réagir à l'impact de l'introduction d'un nouvel élément lors de la phase de test sur l'activité locomotrice, que ce soit les objets, le congénère ou le lait concentré sucré. En effet, à 4 mois (dans le test d'interaction social) et à 12 mois (dans le test du conflit), les rats BACHD manifestent une hyper-réactivité locomotrice. Cette hyper-réactivité traduit une agitation anormale de ces animaux, ce qui est l'un des traits caractéristiques du comportement anxieux.

- Niveau d'anxiété :

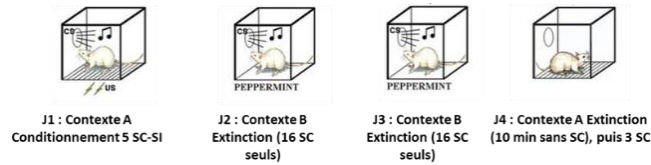
Le niveau d'anxiété ne se manifeste pas de la même façon en fonction de l'âge des animaux et des situations dans lesquelles ils sont testés. En effet, dans le test d'interactions sociales et dans celui du conflit, un état d'anxiété différent des animaux contrôles est visible chez les animaux BACHD âgés de 18 mois (ils passent moins de temps à renifler le congénère que les rats WT et leur latence avant d'aller au centre de l'OF pour boire le lait concentré sucré est plus élevée). Cependant, dans le test de la boîte claire/obscur, l'anxiété des rats BACHD est remarquable dès l'âge de 4 mois (latence d'entrée dans le compartiment éclairé plus élevée et temps passé dans ce compartiment plus faible) et s'aggrave avec l'âge. Ce test est le seul n'ayant aucun élément nouveau ou perturbateur. Ainsi, il reflète davantage le niveau basal d'anxiété des animaux. Les autres tests analysent plutôt la réaction émotionnelle face à des éléments anxiogènes.

Le dernier point important que révèlent ces résultats est que le niveau d'anxiété augmente avec l'âge. Cependant, cet effet de l'âge varie également en fonction du test et du génotype. Dans le test de la boîte claire/obscur, les résultats sont clairs : le niveau d'anxiété augmente avec l'âge quel que soit le génotype (augmentation de la latence d'entrée dans le compartiment éclairé et diminution du temps passé dans ce compartiment). Cependant, dans le test d'interaction sociale, le temps d'interaction avec le congénère augmente avec l'âge dans les deux groupes, mais ce temps d'interaction se stabilise à 18 mois pour les rats WT, tandis qu'aucune augmentation du temps d'interaction avec le congénère n'est plus visible pour les rats BACHD du même âge. Dans le test du conflit, il n'y a pas d'effet de l'âge dans le groupe des rats WT (pas de différence dans la latence de consommation du lait concentré sucré au centre de l'OF), ce qui indique que la balance « situation anxiogène/motivation » reste constante en fonction de l'âge. En revanche, cette balance n'est plus à l'équilibre chez les rats BACHD, suggérant une augmentation du niveau d'anxiété et/ou une diminution de la motivation avec l'âge.

Les résultats présentés ci-dessus vont dans le sens d'un phénotype hyper-réactif et hyper-anxieux des rats BACHD.

3) Conditionnement Pavlovien : aversif et appétitif

- **Test de peur conditionnée :**



Le taux de freezing au pré-SC1 (30 secondes avant l'arrivée du premier son) est mesuré afin d'établir un niveau basal. Chez les rats WT, ce niveau reste constant en fonction de l'âge (40% de freezing en moyenne). Chez les rats BACHD, cependant, le taux de freezing est légèrement plus bas que celui des rats WT à 4 mois (ns) puis ce taux augmente avec l'âge (BACHD : (F(2,25)=6,64, $p < 0,01$) ; interaction âge x génotype : (F(2,55)=1,27, ns))

Après le conditionnement, la présentation des SC dans le contexte B, entraîne une augmentation du taux de freezing chez tous les rats par rapport à leur niveau basal (Fig. 36, jour 2 et jour 3). D'autre part, plus l'âge augmente, plus le taux de freezing aux SC augmente aussi bien chez les rats WT (F(2,30)=6,10, $p < 0,01$) que chez les rats BACHD (F(2,25)=7,93, $p < 0,01$).

Cependant, la répétition des SC seuls a pour effet de diminuer le taux de freezing, c'est le phénomène d'extinction. Cette extinction est visible pour tous les animaux, excepté les rats WT et BACHD âgés de 12 mois (4 mois : WT (F(7,63)=9,58, $p < 0,001$), BACHD (F(7,63)=11,49, $p < 0,001$) ; 12 mois : WT (F(7,56)=1,90, ns), BACHD (F(7,49)=1,16, ns) ; 18 mois : WT (F(7,91)=14,08, $p < 0,001$), BACHD (F(7,63)=3,07, $p < 0,01$).

Finalement, c'est dans le groupe des animaux âgés de 4 mois qu'une différence de génotype est visible. En effet, les rats BACHD ont un taux de freezing plus faible que celui des rats WT ((F(1,18)=5,11, $p < 0,05$)), mais l'interaction génotype x SC n'est pas significative (F(7,126)=0,63, ns).

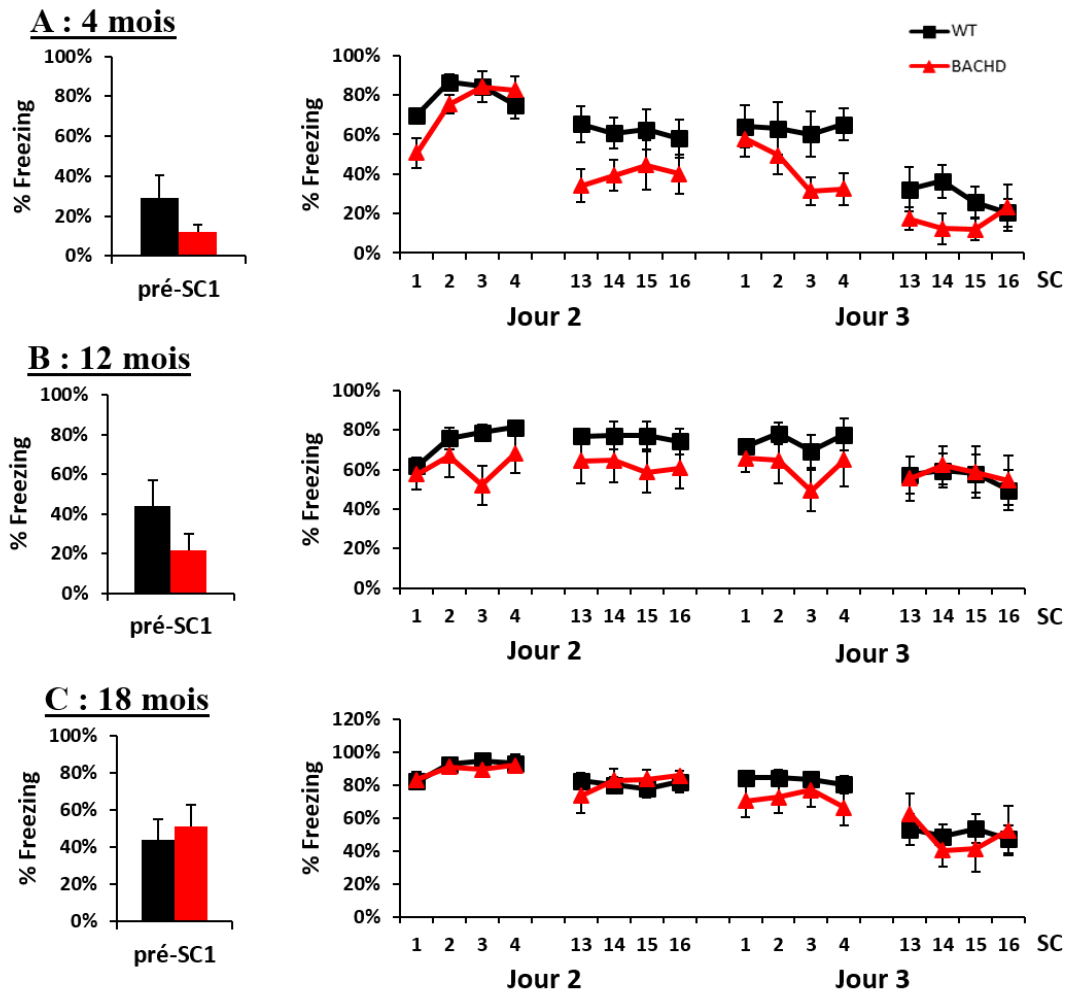


Figure 36 : Test de peur conditionnée : contexte B

Taux de freezing des rats âgés de 4 mois (A), 12 mois (B) et 18 mois (C) durant les 30 secondes avant le premier SC (pré-SC1, à gauche), aux 4 premiers SC puis aux 4 derniers SC du jour 2 et du jour 3 dans le contexte B (à droite).

Les résultats représentent le taux de freezing généré par le contexte conditionné seul (contexte A) (Fig. 37, à gauche), puis le taux de freezing lors de la présentation de 3 SC dans ce contexte A (Fig. 37, à droite).

Durant les 5 premières minutes de contexte seul, l'âge n'a pas d'effet sur le taux de freezing des animaux WT ($F(2,30)=1,90$, ns) et des animaux BACHD ($F(2,25)=1,90$, ns). D'autre part, à 4 et 12 mois, les rats BACHD ont un taux de freezing plus bas que celui des rats WT (4 mois : ($F(1,18)=7,48$, $p<0,05$) ; 12 mois : ($F(1,15)=7,59$, $p<0,05$), alors que la différence n'est pas significative à 18 mois.

Lors de la présentation des 3 SC, l'âge des animaux a un impact seulement sur les rats BACHD ($F(2,25)=7,89, p<0,01$) où plus ils vieillissent plus leur taux de freezing aux SC augmente. Cependant, cet effet est à mettre en parallèle avec celui de l'extinction. En effet, dans le groupe des rats BACHD, l'extinction n'est visible qu'à l'âge de 4 mois (4 mois : ($F(2,18)=19,74, p<0,001$) ; 12 mois : ($F(2,1)=1,55, ns$), 18 mois : ($F(2,18)=0,20, ns$)). Au contraire, chez les animaux WT l'extinction est visible à partir de l'âge de 12 mois (4 mois : ($F(2,18)=2,67, ns$) ; 12 mois : ($F(2,16)=4,75, p<0,05$), 18 mois : ($F(2,26)=4,40, p<0,05$)). Finalement, ce n'est qu'à l'âge de 12 mois que les rats BACHD ont un taux de freezing significativement plus bas que celui des rats WT ($F(1,15)=9,05, p<0,01$).

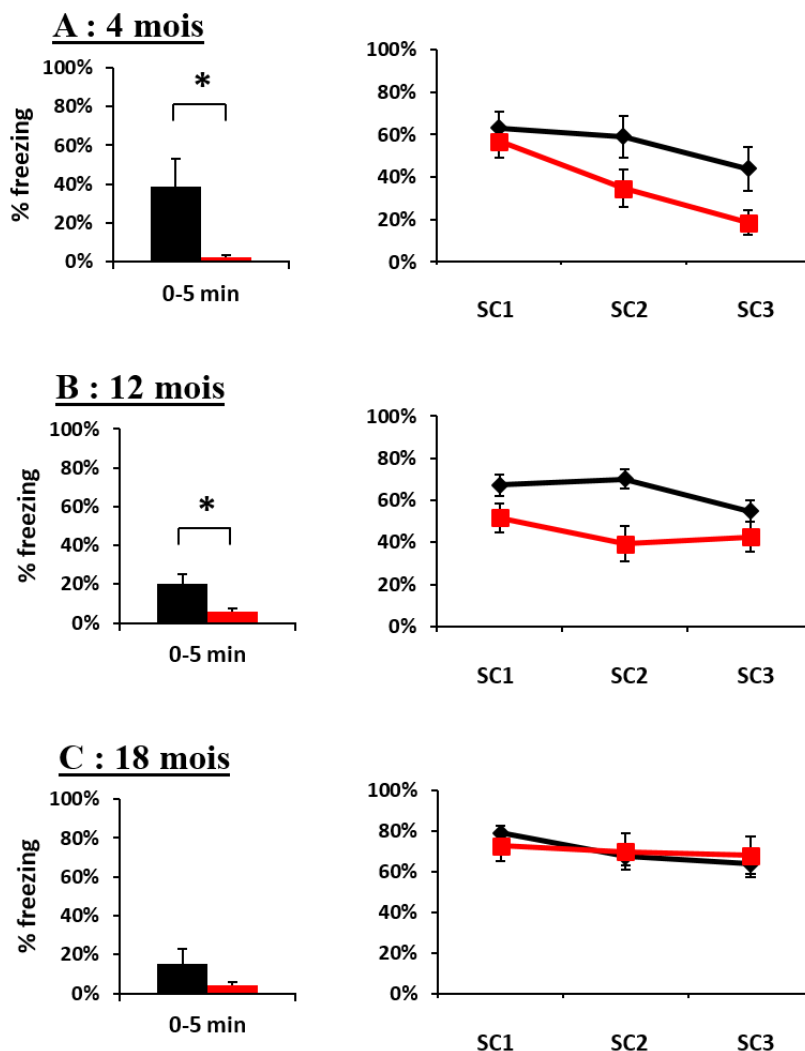


Figure 37 : Test de peur conditionnée : contexte A

Taux de freezing des rats âgés de 4 mois (A), 12 mois (B) et 18 mois (C) durant les 5 premières minutes sans SC ni SI (à gauche) et aux 3 SC (à droite) présentés dans le contexte A.

Conclusion : conditionnement pavlovien aversif

Le test de la peur conditionnée permet de mesurer le taux de freezing dans une situation extrêmement menaçante pour le rat.

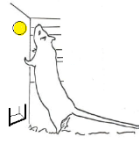
Le niveau de base d'expression du freezing est visible lors des 30 secondes précédant le premier SC. Si ce taux augmente en fonction de l'âge seulement dans le groupe des rats BACHD, aucune différence entre les rats WT et les rats BACHD n'est cependant visible.

Par la suite, la répétition de la présentation des SC en extinction a pour effet une diminution de l'expression du freezing, car l'animal apprend à dissocier ce stimulus de l'arrivée des chocs. Cette extinction diffère selon le génotype et l'âge des animaux. En effet, lorsque le SC est répété suffisamment (2 x 16 présentations, contexte B) l'extinction est visible chez tous les animaux (excepté ceux de 12 mois). Cependant, lorsque le SC n'est présenté que 3 fois (contexte A), les rats BACHD ne manifestent une extinction qu'à l'âge de 4 mois, alors que chez les rats WT l'extinction n'est visible qu'à partir de 12 mois.

Concernant le taux de freezing, si à 18 mois ce taux est similaire entre les rats WT et les rats BACHD (aussi bien aux SC qu'au contexte), lorsqu'ils sont plus jeunes (à 4 et 12 mois), les rats BACHD freezez moins que les rats WT lors de la présentation des SC, mais également dans le contexte conditionné.

Finalement, lors de la présentation des SC (dans le contexte B et dans le contexte A), l'avancée de l'âge induit une augmentation du taux d'expression du freezing chez tous les animaux.

- **Test d'orientation à un stimulus conditionné :**



Le jour de l'habituation, seul le stimulus lumineux est présenté sans avoir été associé au SI (pellets de nourriture). Ce stimulus génère alors des réponses d'orientation (RO) spontanées qui diminuent avec la répétition des présentations (Fig. 38). Ainsi, à 4 mois, cette habituation est remarquable chez les rats WT ($F(1,13)=20,29, p<0,001$) et chez les rats BACHD ($F(1,9)=7,57, p<0,05$) ; à 12 mois, en revanche, elle n'est visible que chez les rats WT (WT : ($F(1,8)=6,13, p<0,05$), BACHD : ($F(1,7)=4,20, ns$), les données de l'habituation pour le groupe de rats âgés de 18 mois sont manquantes). De plus, à 4 mois, les rats BACHD font significativement moins de RO spontanées que les rats WT (4 mois : ($F(1,22)=31,24, p<0,001$), 12 mois ($F(1,15)=3,15, ns$)). Finalement, avec l'âge, les rats WT ($F(1,21)=33,15, p<0,001$) et les rats BACHD ($F(1,16)=4,66, p<0,05$) font de moins en moins de RO spontanées.

Lors du conditionnement, l'avancé de l'âge a pour effet de diminuer le nombre de RO aux SC ($F(2,59)=3,48, p<0,05$) (Fig. 38, courbes de gauche). De plus, à partir de 12 mois les rats BACHD émettent moins de RO aux SC que les rats WT (4 mois : ($F(1,22)=1,79, ns$) ; 12 mois : ($F(1,15)=5,02, p<0,05$) ; 18 mois : ($F(1,22)=5,81, p<0,05$)).

Les résultats des RO à la mangeoire lors du conditionnement (Fig. 38 courbes de droite) montrent que ce nombre de réponses diminue avec l'âge, aussi bien pour les rats WT ($F(2,34)=7,68, p<0,01$) que pour les rats BACHD ($F(2,25)=3,58, p<0,05$). D'autre part, avec la répétition du conditionnement (association SC-SI), le nombre de RO augmente pour tous les animaux ($F(3,177)=30,90, p<0,001$). Finalement, à l'âge de 18 mois les rats BACHD émettent moins de RO à la mangeoire que les rats WT (4 mois : ($F(1,22)=2,45, ns$) ; 12 mois : ($F(1,15)=0,26, ns$) ; 18 mois : ($F(1,22)=6,19, p<0,05$)). À cet âge, une interaction génotype x sessions ($F(3,66)=3,04, p<0,05$) est d'ailleurs visible.

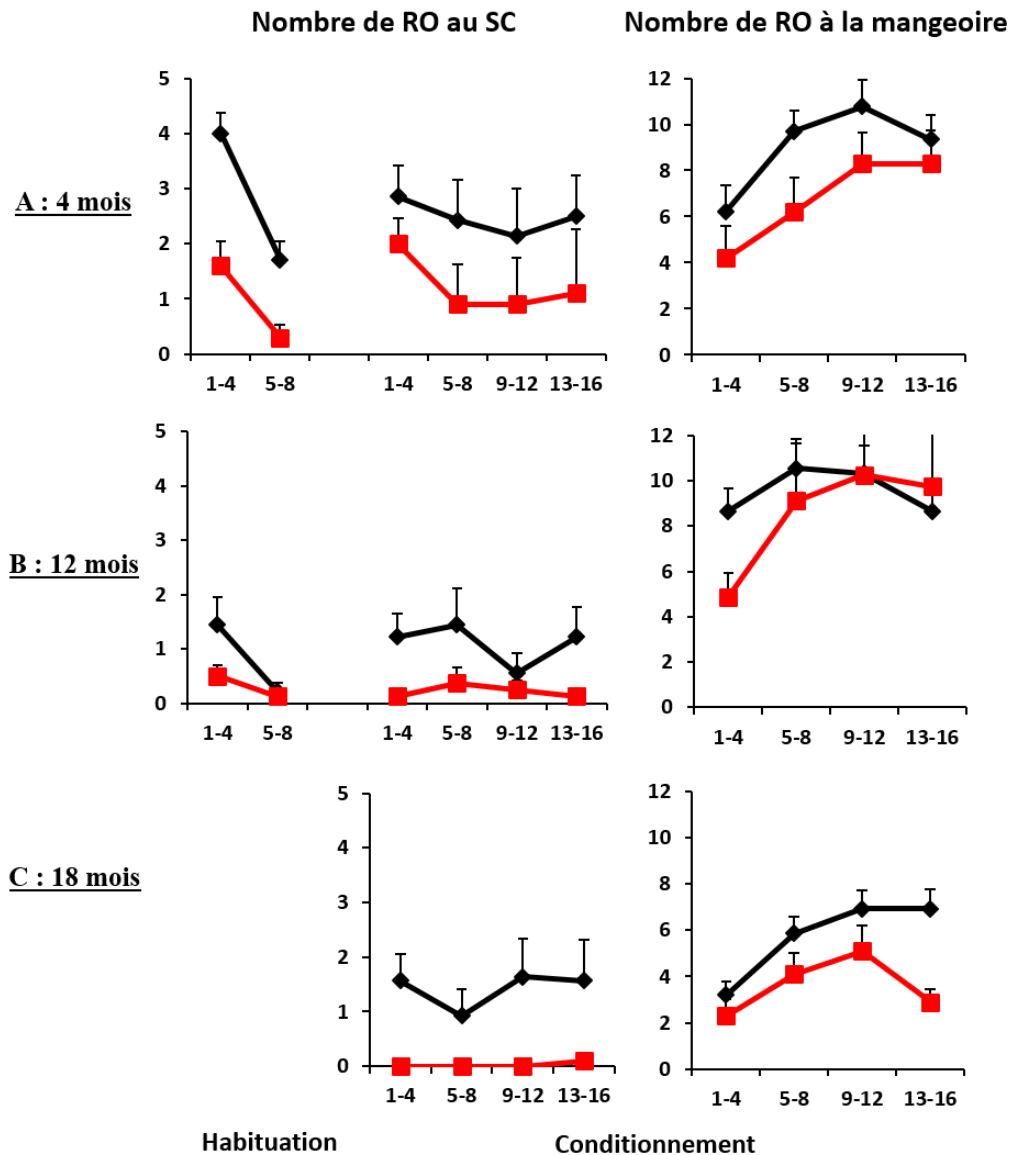


Figure 38 : Test d'orientation à un stimulus conditionné

Nombre de RO des rats âgés de 4 mois (A), 12 mois (B), et 18 mois (C) dirigées vers le SC (à gauche) et vers la mangeoire (à droite).

On analyse également les données en termes de pourcentage d'essais comprenant au moins une RO dirigée soit vers le SC, soit vers la mangeoire ou alors lorsqu'aucune RO n'est exprimée.

Lors de l'habituation, l'évolution du pourcentage d'essais avec une RO au stimulus (Fig. 39 A, gauche) évolue différemment selon le génotype en fonction de l'âge (interaction génotype x âge : $(F(1,53)=4,92, p<0,05)$). En effet, il y a moins d'essais avec des RO au stimulus chez les rats de 12 mois par rapport aux rats de 4 mois (WT : $(F(1,27)=44,52, p<0,001)$; BACHD $(F(1,26)=6,72, p<0,05)$). Cependant, à 4 mois, le pourcentage d'essais avec une RO au stimulus

est plus faible chez les rats BACHD que chez les rats WT ($F(1,38)=26,64, p<0,001$). Concernant les RO à la mangeoire (Fig. 39 A, milieu), les rats de 12 mois ont un pourcentage d'essais avec des RO à la mangeoire plus important que les rats de 4 mois ($F(1,53)=5,79, p<0,05$), mais ce pourcentage n'est pas différent entre les rats WT et les rats BACHD, quel que soit leur âge (4 mois : ($F(1,38)=1,24, ns$) ; 12 mois : ($F(1,15)=1,63, ns$)). Si les rats n'émettent ni une RO vers le stimulus ni vers la mangeoire, l'essai est caractérisé comme sans réponse. L'évolution du pourcentage d'essais sans réponse (Fig. 39 A, droite) est différente en fonction de l'âge et du génotype (interaction génotype x âge : ($F(3,66)=3,04, p<0,05$)). Ainsi, en vieillissant, les rats WT augmentent leur pourcentage d'essais sans réponse ($F(1,27)=24,80, p<0,001$), alors que chez les rats BACHD ce pourcentage est élevé dès l'âge de 4 mois (et supérieur à celui des rats WT : ($F(1,38)=15,47, p<0,05$)) et similaire à celui des rats de 12 mois ($F(1,15)=0,01, ns$).

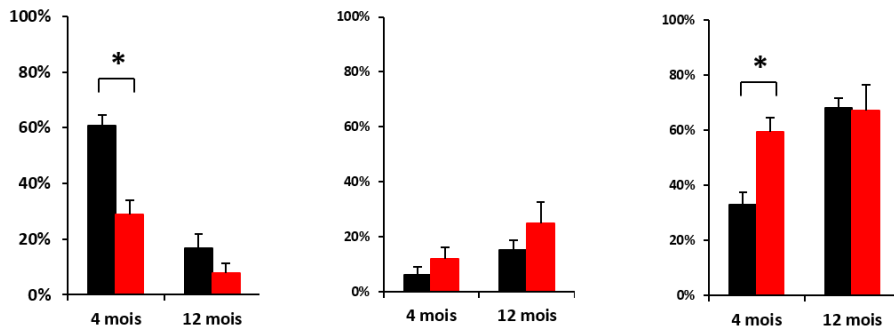
Pendant le conditionnement, lorsque le stimulus est prédictif de nourriture, les rats BACHD ont un pourcentage d'essais avec une RO au SC plus bas que chez les rats WT ($F(1,53)=8,43, p<0,01$) (Fig. 39 B, à gauche) sans évolution avec l'âge. Concernant le pourcentage d'essais avec une RO à la mangeoire, aucune différence n'est visible que ce soit entre les groupes d'âge ou entre les deux génotypes (Fig. 39 B, milieu). Enfin, les rats BACHD font globalement plus d'essais sans réponse que les rats WT ($F(1,53)=9,95, p<0,01$) (Fig. 39 B, à droite).

RO au SC

RO à la mangeoire

Pas de réponse

A : Habituation



B : Conditionnement

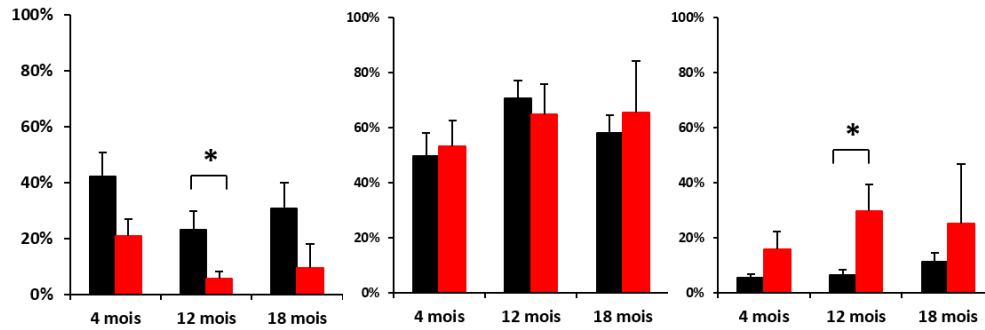


Figure 39 : Test d'orientation à un stimulus conditionné

Pourcentage d'essais contenant au moins une réponse d'orientation dirigée vers le SC (à gauche) ou vers la mangeoire (au milieu), ou encore sans réponse (à droite), pendant l'habituation (A) et le conditionnement (B).

Conclusion : conditionnement pavlovien appétitif

La valeur motivationnelle et/ou le caractère de nouveauté sont des caractéristiques nécessaires au stimulus pour provoquer des réponses attentionnelles et générer des RO.

Lors de la phase d'habituation, des réponses spontanées dirigées vers le stimulus lumineux sont visibles chez tous les animaux. Avec la répétition de la présentation de ce stimulus, le caractère de nouveauté disparaît et le nombre de RO diminue également chez tous les animaux. Les résultats indiquent que l'âge des animaux affecte le taux de réponse, c'est-à-dire plus ils vieillissent, moins ils manifestent de RO spontanées au stimulus. De plus, à 4 mois, les rats BACHD font moins de RO au stimulus pendant la phase d'habituation. Ces données suggèrent des altérations précoces des processus attentionnels chez les rats BACHD entraînant une perte rapide des effets de la nouveauté du stimulus chez ces animaux.

Lors de l'association du stimulus lumineux (SC) avec une récompense alimentaire (SI), le taux de RO dirigées vers le SC augmente avec la répétition des présentations de ce SC. Cependant, le taux de RO diminue avec l'avancée en âge des rats. De plus, les rats BACHD émettent moins de RO aux SC que les rats WT. En parallèle, le nombre de RO dirigées vers la mangeoire augmente au cours de la séance chez tous les animaux, mais est diminué chez les rats les plus âgés par rapport aux plus jeunes. De plus, à 18 mois, les rats BACHD émettent moins de RO à la mangeoire que les rats WT.

Cependant, quand le pourcentage d'essai avec une réponse d'orientation à la mangeoire est analysé, aucune différence n'est visible entre les groupes d'âge et entre les deux génotypes, alors que les rats BACHD ont moins d'essais avec des RO au SC que les WT. Pour finir, les résultats montrent que globalement les rats BACHD font plus d'essais sans réponse que les rats WT.

IV) Discussion

A) Phénotype hypo ou hyper anxieux ?

Si nos résultats tendent majoritairement en faveur d'un phénotype d'hyper-anxiété, certains cependant ne vont pas dans ce sens et font échos à d'autres données de la littérature où une hypo-anxiété serait visible dans ce modèle. Qu'en est-il réellement : les rats BACHD ont-ils un phénotype hypo ou hyper-anxieux ?

Afin de répondre de façon précise à cette question, les résultats précédents vont ici être analysés et interprétés en fonction des différentes données de la littérature concernant les apports des tests comportementaux utilisés, mais aussi concernant les résultats connus dans d'autres modèles ou chez le patient MH.

Test de l'OF avec objet nouveau : le test de l'OF a pour but de mesurer les différences de réactivité émotionnelle, mise en évidence notamment par l'activité locomotrice (distance parcourue). Plusieurs études de réactivité à la nouveauté ont permis de distinguer deux types de profils chez le rat: ceux qui, face à un nouvel environnement ou objet, augmentent leur activité locomotrice ou, au contraire, ceux qui ont une plus faible activité locomotrice face à la nouveauté. Ces études ont notamment mis en évidence que les rats ayant une augmentation d'activité locomotrice présentent également une libération augmentée de corticostérone suite à un stress par rapport aux animaux contrôle (Piazza *et al.*, 1991; Kabbaj *et al.*, 2000), des comportements de prise de risque (Hooks *et al.*, 1991; Kabbaj *et al.*, 2000), ainsi que des comportements agressifs et impulsifs (Flagel *et al.*, 2010). Cependant, si dans certaines de ces études, les animaux présentent un faible niveau de peur et d'anxiété dans les tâches de la boîte claire/obscur et du labyrinthe en croix surélevé (Kabbaj *et al.*, 2000; Stead *et al.*, 2006), dans l'étude de Duclot (Duclot *et al.*, 2011) les animaux ayant une activité locomotrice importante lorsqu'ils sont exposés à un nouvel environnement sont plus vulnérables aux altérations émotionnelles induites par un stress (privation sociale) et manifestent dans ce cas un niveau d'anxiété plus important (test de l'Open Field) que des animaux ayant une activité locomotrice moindre. Ainsi, une grande activité locomotrice peut exprimer, non pas toujours directement un niveau d'anxiété élevé, mais en tout cas une réactivité aux situations stressantes exacerbée.

Dans notre étude, les résultats du test de l'OF avec objet nouveau, ainsi que celui du couloir circulaire montrent clairement que les rats BACHD de 4 mois ont une réactivité

exagérée face à la nouveauté et qu'ils rentrent alors dans la catégorie de ces rats hyper-(ré)actifs. Dans l'étude de Clinton, ces animaux avec un haut niveau d'exploration de la nouveauté sont définis comme ayant un comportement de « désinhibition » c'est-à-dire qu'ils explorent et interagissent de façon exagérée avec leur environnement (Clinton *et al.*, 2011). Avant cela, Dawe ainsi que Ball (Dawe *et al.*, 2004; Ball, 2005) ont également caractérisé les traits d'impulsivité, d'interaction avec la nouveauté et de la prise de risque comme des comportements de désinhibition chez l'homme. D'autre part, l'étude de DiMaio (Di Maio *et al.*, 1993) montre que les patients MH présentent souvent un comportement de désinhibition.

Dans ce cas, le comportement d'hyper-réactivité face à la nouveauté des animaux BACHD ne reflèterait pas un phénotype hypo-anxieux mais un comportement de désinhibition et, sans doute, un niveau d'anxiété élevé.

Test du labyrinthe en croix surélevé : ce test est l'un des plus utilisés pour l'étude du comportement anxieux. Il permet de confronter le comportement exploratoire des rats à celui de peur des espaces ouverts, éclairés et surélevés. Lorsque le comportement d'exploration l'emporte, alors les animaux sont considérés comme peu anxieux. Au contraire, si les animaux restent confinés dans les espaces clos et peu éclairés que confèrent les bras fermés, alors le niveau d'anxiété des animaux est défini comme élevé. Les données concernant les modèles de souris MH ne vont pas toutes dans le même sens : dans un modèle transgénique (CaMKCreER^{T2}; Htt^{fllox/fllox}), les souris ont un phénotype hyper-anxieux (Pla *et al.*, 2013), cependant, dans l'étude de Nithianantharajah ce phénotype n'est pas retrouvé chez les souris R6/1 de 12 semaines (Nithianantharajah *et al.*, 2008). Dans la première étude concernant les rats BACHD (Yu-Taeger *et al.*, 2012), une augmentation du temps passé dans les bras ouverts du labyrinthe en croix surélevé a été montrée à partir de 4 mois. De même, nos résultats montrent une augmentation du temps passé dans les bras ouverts des rats BACHD de 4 mois par rapport aux rats WT. Cependant, ce test a également mis en évidence une augmentation de la prise de risque des rats transgéniques, ce qui est un des traits caractéristiques du comportement de désinhibition. D'autre part, la prise de risque est également décrite comme un trait caractéristique de l'impulsivité (Eysenck & Eysenck, 1977). Or, une récente étude, réalisée par notre équipe sur ce modèle de rat BACHD (Manfré *et al.*, n.d.) montre que ces animaux expriment, tout comme les patients MH, un haut niveau d'impulsivité à un stade présymptomatique (3 mois) , que ce soit une impulsivité d'action définie comme une incapacité à « retenir » une réponse motrice acquise, ou une impulsivité de choix définie comme l'incapacité à évaluer et/ou à utiliser les conséquences

de ses actes ou des événements de son environnement. Ainsi, les résultats de notre test ne démontreraient pas un phénotype hypo-anxieux des rats BACHD, mais plutôt un phénotype de désinhibition et d'impulsivité souvent associé à un état anxieux élevé.

Interaction sociale : Dans un test d'interaction sociale classique (où le rat étranger est libre dans l'OF), le niveau d'anxiété est corrélé au temps passé à interagir avec le congénère (plus ce temps d'interaction est grand, moins les animaux testés sont anxieux). La spécificité de notre test est que le rat étranger est confiné dans une boîte et ne peut donc pas bouger librement dans l'OF. Cela permet d'éviter les contacts physiques directs et par conséquent des comportements agressifs, tout en gardant les interactions sensorielles. Dans ce cas, c'est le rat testé qui commence et termine tous les contacts ; il garde en permanence le choix entre interagir avec le congénère conspécifique ou la boîte contenant des objets.

Dans notre étude, le temps d'interaction avec le rat étranger est augmenté chez les rats de 12 mois par rapport aux rats de 4 mois, aussi bien chez les animaux normaux que transgéniques, laissant penser à une diminution du niveau de l'anxiété avec l'âge. Cependant, la configuration de notre protocole peut apporter une interprétation différente. Chez les animaux sociaux, comme le sont les rats, les interactions sociales sont essentielles pour une coopération efficace dans la recherche des besoins dont dépend leur survie (nourriture, partenaire sexuelle et sécurité). Chaque membre peut ainsi informer le groupe d'une menace et il est compréhensible qu'un individu se sente en sécurité lorsqu'il est en présence des membres de sa colonie. En effet, la présence d'un congénère atténue les réponses de stress chez le rat: le taux de corticostérone est plus faible chez les animaux mis en présence d'un congénère lors d'une exposition à un nouvel environnement, que ceux qui y sont introduits seuls (Hennessy *et al.*, 2009). Ce comportement, défini sous le terme de « social buffering », a été en premier lieu décrit chez le sujet humain (Kirschbaum *et al.*, 1995; Thorsteinsson *et al.*, 1998) et a été plus largement étudié par la suite. Dans ce cadre, le rapprochement et les contacts avec le congénère sont toujours définis comme un réducteur de stress et d'anxiété, bloquant les réponses de peur conditionnées à un stimulus aversif (freezing et activation de l'axe HPA) (Kikusui *et al.*, 2006; Kiyokawa *et al.*, 2007, 2012). Dans ce cas, il est possible que l'augmentation du temps d'interaction des rats plus âgés, observés dans nos résultats, ne soit pas le reflet d'un niveau d'anxiété plus bas, mais d'une recherche plus importante du congénère dans le but de se rassurer par rapport à l'environnement extérieur anxiogène (OF ouvert et éclairé). À 18 mois, les rats normaux ont un taux d'interaction avec le congénère similaire à celui des rats de 12 mois, indiquant que le comportement de « social buffering » est toujours présent. En revanche, les animaux BACHD de 18 mois ne recherchent aucune interaction avec le congénère. Ils ne manifestent pas non

plus de comportement d'évitement de la cage contenant le congénère (car les temps d'interaction lors de l'habituation et lors du test sont similaires). Plutôt qu'une diminution du comportement de « social buffering » ou une augmentation du niveau d'anxiété, ce résultat suggère un comportement d'indifférence cohérent avec le symptôme d'apathie présent chez le patient MH.

Finalement, les rats BACHD âgés de 4 mois ne manifestent pas de trouble dans l'interaction sociale, mais leur activité locomotrice est augmentée dans la phase de test par rapport à la phase d'habituation. Cette donnée rejoint les résultats précédents et dénote un comportement d'hyper-réactivité et de désinhibition de façon précoce. Encore une fois, ces résultats reflètent davantage un comportement d'hyper-anxiété des rats BACHD.

Test de conflit : ce test met en conflit deux types de motivations concurrentes : l'envie d'aller consommer une solution sucrée hautement palatable et la crainte de s'aventurer au centre de l'arène éclairée. Dans l'étude de David (David *et al.*, 2009), l'administration chronique d'anxiolytiques induit une diminution de la latence de consommation d'une pastille de nourriture placée au centre d'un OF, mettant en évidence que cette latence est dépendante du niveau d'anxiété des animaux. Ce test a déjà été réalisé sur quelques modèles de souris MH : dans un modèle KI mâle présymptomatique (13 semaines), aucune différence de la latence n'a été relevée (Orvoen *et al.*, 2011); dans un modèle transgénique mâle (CaMKCreER^{T2}; Htt^{flox/flox}) âgé de 8 mois cette latence est augmentée par rapport aux souris contrôles (Pla *et al.*, 2013). Ce test semble donc sensible au modèle utilisé et/ou à l'âge des animaux, mais également au sexe (les souris KI femelles ont une latence augmentée, comparée aux souris KI mâles (Orvoen *et al.*, 2011)).

Concernant nos rats BACHD, la latence n'est pas différente à un stade précoce, mais elle augmente avec l'avancée en âge des animaux, tandis que chez les rats WT cette latence n'évolue pas en fonction de l'âge. Ces données suggèrent que l'augmentation du niveau d'anxiété observé chez les animaux BACHD est bien un effet de la progression de la MH et pas du vieillissement physiologique. Ainsi, à 18 mois dans ce test, les rats BACHD manifestent un phénotype hyper-anxieux par rapport aux rats normaux.

Test de la boîte claire/obscur : ce test permet lui aussi de mettre en conflit deux types de comportements opposés : l'envie d'explorer un nouvel environnement et l'aversion pour les espaces ouverts et éclairés. Cependant, contrairement aux tests précédents, l'exposition

au nouveau milieu n'est pas forcée (le rat n'est pas directement placé dans un OF ouvert et éclairé) et l'animal explore la situation nouvelle librement. Ainsi, ce test reflèterait davantage une « anxiété de trait » (c'est-à-dire innée ou basale) qu'une « anxiété d'état » (c'est-à-dire situationnelle). En effet, les concepts d'anxiété de « trait » ou d'« état » ont été proposés afin de différencier l'anxiété qui ne varie pas d'un moment à un autre et qui est considérée comme une caractéristique durable de l'individu et l'anxiété auquel les individus sont soumis à un moment donné et qui est augmentée en présence d'un stimulus anxiogène (Belzung & Griebel, 2001). Si l'anxiété d'état reflète un comportement « normal » et adapté à la situation, l'anxiété de trait est davantage reconnue comme facteur de prédisposition aux troubles anxieux. Dans ce test, la latence d'entrée dans le compartiment éclairé est positivement corrélée au niveau d'anxiété de trait des rats : plus la latence est grande plus les animaux sont anxieux. En effet, une injection d'anxiolytique (diazépam) dans l'amygdale diminue la latence d'entrée dans le compartiment éclairé et augmente le temps passé dans ce compartiment chez la souris (Costall *et al.*, 1989). Ce test est couramment utilisé, en particulier dans les modèles MH : les souris R6/2 (à 12 semaines), les souris KI (à 6 semaines) ou encore les souris BACHD (à 12 semaines) ont une latence plus importante que celle des souris WT (Hickey *et al.*, 2005, 2008; Menalled *et al.*, 2009). Ces résultats sont tous cohérents et indiquent un phénotype hyper-anxieux des animaux MH. Notre modèle Rat BACHD va également dans ce sens : une hyper-anxiété de trait, ou basale, est visible dès 4 mois.

Finalement, pris dans leur ensemble, ces résultats dénotent un certain nombre de troubles émotionnels des rats BACHD et en particulier un phénotype hyper-anxieux dès le stade présymptomatique. D'autre part, les résultats soulignent que l'analyse des comportements émotionnels est complexe chez les animaux et que le caractère « anxieux » peut-être caractérisé par une multitude de comportements. Ainsi, plus qu'un phénotype d'hyper-anxiété, ce modèle de rat exprime un comportement de désinhibition, avec une impulsivité et une prise de risque augmenté ainsi qu'une réactivité exacerbée face à un stimulus nouveau et potentiellement menaçant.

B) Bases neurobiologiques des troubles émotionnels ?

En Europe, les troubles psychiatriques les plus fréquents (20 à 30% de la population générale sont touchés au cours de leur vie) sont ceux de l'anxiété (Kessler *et al.*, 2005). C'est pourquoi, les mécanismes cérébraux mis en jeu dans le comportement anxieux ont été, et sont toujours, largement étudiés que ce soit chez l'Homme ou chez l'animal. Ainsi, les régions corticales, avec en particulier le cortex préfrontal ou encore le cortex cingulaire, et les structures limbiques comme l'amygdale, l'insula et l'hippocampe sont souvent citées. Selon Gross ou encore plus récemment Etkin (Gross & Hen, 2004; Etkin, 2010), l'état anxieux serait généré suivant 2 phases principales :

- Une phase d'identification des stimuli environnementaux potentiellement menaçants et de génération des réponses physiologiques et comportementales responsables de l'état anxieux. Cette phase est sous-tendue par l'amygdale, l'insula, l'hypothalamus et le PAG, c'est-à-dire le système limbique.
- Une phase d'évaluation et de régulation afin d'attribuer une valence émotionnelle aux stimuli et d'y répondre de façon adaptée. Cette phase est davantage sous la dépendance des régions corticales telles que le cortex préfrontal bien que le système limbique soit tout de même impliqué (en particulier pour l'aspect évaluation).

Grâce aux études réalisées chez l'animal, les différentes structures impliquées dans l'anxiété ont pu être plus précisément analysées via, entre autres, l'injection d'agents pharmacologiques ou encore des lésions. Par exemple, l'administration de benzodiazépines dans l'amygdale a un effet anxiolytique (Davis, 1992) ou plus particulièrement la lésion spécifique du CeA atténue les comportements anxieux (Ventura-Silva *et al.*, 2013). Par ailleurs, une récente étude d'électrophysiologie a mis en évidence que la synchronisation au sein du circuit mPFC-BLA augmente pendant les états de stress important, suggérant que les entrées du mPFC sur le BLA sont un facteur-clé permettant la discrimination entre des stimuli aversifs et des stimuli de sécurité et de réduire l'anxiété (Likhtik *et al.*, 2014). De plus, la stimulation du mPFC induit également une diminution de l'activité des neurones du CeA projetant sur les structures responsables des réponses de peur et d'anxiété (Quirk *et al.*, 2003). Enfin, chez l'Homme, une étude d'imagerie a permis de corrélérer l'activation spécifique du CeA avec un haut niveau d'anxiété de « trait » (Li *et al.*, 2012).

Finalement, toutes ces études indiquent que le comportement d'anxiété est principalement généré par le réseau neuronal impliquant le cortex préfrontal et l'amygdale. En particulier, la modulation de l'activité du CeA semble spécifiquement entraîner des modifications du comportement anxieux. Ainsi, il est possible que l'altération de cette structure soit à l'origine des troubles anxieux.

Nous avons vu qu'il est possible d'analyser le comportement anxieux des rats via des tests basés sur des aversions naturelles (ou tests non conditionnés). Une autre catégorie de tests le permet également, ceux basés sur des aversions apprises (ou tests conditionnés).

Test pavlovien aversif (peur conditionnée) : c'est un test d'apprentissage simple qui repose sur l'association de deux stimuli (un stimulus neutre SC prédicteur d'un stimulus aversif (SI)) et qui fait intervenir la mémoire implicite ou non-déclarative. Cette capacité d'apprentissage associatif est retrouvée chez la plupart des espèces à un stade de développement précoce (Delacour, 1980) et son expression se fait de façon relativement automatique. La mesure permettant de rendre compte de l'apprentissage de l'association SC-SI est la quantification de la réponse conditionnée (RC). Elle peut se manifester par diverses réactions endocriniennes (libération d'hormones de stress), viscérales (augmentation des rythmes cardiaque et respiratoire) ou encore comportementales (LeDoux, 1998). Chez le rongeur, cette dernière est souvent représentée par la mesure du freezing qui a été caractérisé par des phases d'immobilisation totale de l'animal, mis à part les mouvements induits par la respiration (Blanchard & Blanchard, 1969).

Sa simplicité de mise en œuvre et de quantification, ainsi que la stabilité du comportement qu'il génère font de ce test un choix de prédilection dans l'expérimentation animale. Malgré cela, les processus neuronaux sous-jacents apparaissent comme complexes. L'amygdale a cependant rapidement été identifiée comme la composante essentielle des apprentissages associatifs aversifs. En effet, en 1995, Bechara montre que des patients ayant une lésion bilatérale de l'amygdale ne sont pas capables de réaliser des associations conditionnées (Bechara *et al.*, 1995). Ensuite, LaBar a également mis en évidence une augmentation spécifique du flux sanguin dans l'amygdale (via des études d'imagerie) lors de l'apprentissage d'un test de conditionnement aversif par des sujets sains (LaBar *et al.*, 1998). D'autre part, grâce aux études chez le rongeur, des modèles neuronaux sous-tendant l'apprentissage du conditionnement aversif, aussi bien au SC qu'au contexte, ont été proposés et tous mettent l'amygdale au cœur de cette acquisition (LeDoux, 1995; Davis, 1997; Paré *et al.*, 2004). Plus précisément, les travaux de LeDoux (LeDoux, 2000, 2007)

ont permis d'établir que l'acquisition et la consolidation du conditionnement au SC sont principalement sous-tendues par le LA (qui reçoit les informations du stimulus via les aires corticales sensorielles et les noyaux thalamiques) et que le CeA serait responsable de l'expression des réponses comportementales. Cependant, l'étude de Wilensky (Wilensky et al., 2006) a analysé plus en détail le rôle du CeA et a défini que cette structure est essentielle non seulement pour l'expression, mais aussi pour l'acquisition du conditionnement aversif. En amont de l'amygdale, une autre structure a souvent été identifiée dans le processus de conditionnement aversif, il s'agit de l'hippocampe (Holland & Bouton, 1999), qui a d'abord été reconnu comme nécessaire au conditionnement aversif au contexte. En effet, il a été montré qu'une lésion de l'hippocampe altère spécifiquement le conditionnement contextuel, mais pas celui au son (SC) (Kim & Fanselow, 1992; Phillips & LeDoux, 1992). Cependant, ces études font référence à des lésions de l'hippocampe dorsal et lors de lésion ou d'inactivation de la partie ventrale, le conditionnement au SC est lui aussi perturbé (Hunsaker & Kesner, 2009).

Ainsi, ces données nous suggèrent que le réseau hippocampo-amygdalien pourrait être le réseau responsable de l'apprentissage du conditionnement aversif, et que, suivant la nature du stimulus (SC ou contexte), ce réseau fonctionnerait différemment. Quoi qu'il en soit, l'amygdale et, en particulier, le CeA est nécessaire à cet apprentissage.

Les résultats de notre étude indiquent que les rats BACHD, quel que soit leur âge, ont parfaitement appris à associer le SC au SI (au début de la phase d'extinction aux SC dans le contexte B, le taux de freezing est élevé et similaire à celui des rats normaux). Ensuite cependant, ce taux est moindre, et différent de celui des rats WT, exclusivement chez les rats BACHD de 4 mois. Même si aucune interaction n'a été relevée, ce résultat indique une extinction plus rapide chez ces animaux à un stade précoce. Dans la revue de Paré (Paré & Duvarci, 2012), les auteurs proposent que le phénomène d'extinction serait, entre autres, induit par la désinhibition d'une population de cellules glutamatergiques du BA : les « cellules d'extinction ». En effet, lors d'un conditionnement, le SC induit l'excitation de « neurones de peur » dans le BA qui vont à leur tour activer des interneurons GABAergiques pour inhiber les « neurones d'extinction ». Lorsque le SC perd sa valeur prédictive, ce réseau n'est plus excité et les « neurones d'extinction » sont désinhibés. Ces cellules glutamatergiques projettent particulièrement sur les ITCv qui vont alors inhiber les cellules du CeM et diminuer les réponses comportementales de peur. Il est alors possible que l'extinction plus rapide des rats BACHD reflète la désinhibition de ces cellules d'extinction du BA témoignant d'une perte plus rapide de la valeur prédictive du SC. D'autre part, il est également possible que cette

extinction plus rapide soit due à un défaut des connexions glutamatergiques du cortex infralimbique sur le réseau inhibiteur de l'amygdale (Milad & Quirk, 2012).

Lors de l'exposition des animaux au contexte conditionné, les rats BACHD de 4 et 12 mois ont un taux de freezing inférieur à celui des rats normaux. Ce résultat complète des données préalablement publiées avec ce modèle de rat HD (Abada, Nguyen, Ellenbroek, et al., 2013) et suggère une altération du réseau hippocampo-amygdalien.

Les résultats des tests comportementaux précédents nous amènent finalement à une dernière interprétation où le comportement de désinhibition et d'hyper-activité locomotrice de ces animaux BACHD serait en conflit avec le comportement de freezing. Ce dernier étant sous la dépendance du CeA, l'altération de cette structure ainsi que le niveau d'anxiété élevé et la tendance à l'hyper-réactivité aux situations menaçantes, entraîneraient alors chez ces animaux un comportement de « panique » interférant avec celui du freezing. Ainsi, à un stade précoce, les rats BACHD seraient dans l'incapacité de maintenir une immobilité accrue et prolongée, témoin classique de l'état de peur. La grande plasticité cellulaire présente dans l'amygdale a pu par la suite induire des phénomènes compensatoires pour l'expression de ce comportement à des taux similaires chez les animaux de 18 mois.

Test pavlovien appétitif (orientation à un SC) : tout comme le conditionnement aversif, le conditionnement appétitif repose sur un apprentissage associatif entre un stimulus neutre (SC lumineux) et un stimulus appétitif (SI, pellet de nourriture). D'autre part, il est admis que la présentation d'un stimulus nouveau permet d'attirer l'attention et de générer une réponse d'orientation (RO, mouvement des yeux, de la tête ou du corps en direction du stimulus) dans le but de préparer le corps à une action future (Holland et al., 2002). Plusieurs études se sont intéressées à ces RO et ont montré qu'elles diminuent lorsque le stimulus est répétitivement présenté seul, mais qu'elles augmentent lorsque le stimulus est associé à un événement à forte valeur motivationnelle (douleur ou nourriture) (Holland, 1977; Kaye & Pearce, 1984). Ainsi, l'étude de Holland a mis en évidence des RO spontanées chez le Rat (redressement) dirigées vers un stimulus visuel ou auditif et une augmentation de ces RO dans une tâche de conditionnement pavlovien appétitif où le stimulus est associé à de la nourriture (Holland, 1977). Par la suite, Holland et Gallagher (Holland & Gallagher, 1999) montrent qu'une lésion spécifique du CeA perturbe les RO conditionnées mais pas les RO spontanées, caractérisant cette structure comme essentielle dans la modulation des RO acquise lors du conditionnement (ce qui reflète l'un des aspects du processus attentionnel), c'est-à-dire essentielle pour le processus associatif. D'ailleurs, Mcdannald montre que le CeA est

nécessaire dans l'apprentissage du conditionnement d'orientation, mais, une fois les RO acquises, l'altération du CeA n'induit plus de perturbation de l'expression de ces RO (Mcdannald *et al.*, 2004).

D'autre part, ce test a permis de déterminer deux types de profils : les animaux « orienteurs » et les « non-orienteurs ». Ainsi, les animaux exprimant des RO dirigées vers le SC ont été catégorisés comme « sign-trackers » (ST), alors que ceux qui se dirigent directement là où la nourriture est distribuée sont catégorisés comme « goal-trackers » (GT) (Morrow *et al.*, 2012). Selon cette étude, ces deux profils se différencieraient par la valeur motivationnelle qu'ils attribuent au SC. L'étude de Meyer (Meyer *et al.*, 2012) met également en évidence cette attribution de valeur motivationnelle et indique qu'elle est propre à chaque individu. Ainsi, dans une large population de rats, environ 1/3 présentent un comportement de ST et 1/3 un comportement de GT. Le 1/3 restant est classé comme intermédiaire (les rats manifestent autant de RO au SC qu'à la nourriture). De plus, il est montré que le CeA est particulièrement critique pour les comportements de « sign-tracking » (Everitt *et al.*, 1999; Meyer *et al.*, 2012)

Dans notre étude, les rats BACHD ont un taux de RO, que ce soit des RO spontanées ou dirigées vers le SC, inférieur à celui des rats normaux, suggérant un défaut du comportement attentionnel aussi bien basal qu'au cours de l'apprentissage. Ces résultats sont notamment à mettre en parallèle avec ceux obtenus lors du test de la réactivité sensorimotrice où les animaux transgéniques de 4 mois ont un défaut de filtrage sensorimoteur. En effet, leur pourcentage d'inhibition du sursaut est plus faible que celui des rats normaux, ce qui reflète un déficit attentionnel très « basique » à un stade précoce. Cette altération du processus attentionnel pourrait être due à une altération du CeA, mais aussi à un déficit dopaminergique, car il a été montré que les récepteurs D1 et surtout les récepteurs D2 sont impliqués dans la régulation de l'inhibition au sursaut (Geyer *et al.*, 2001). Or, une réduction de la liaison aux récepteurs dopaminergiques est retrouvée chez les rats BACHD (Yu-Taeger *et al.*, 2012). Finalement, ces données suggèrent un défaut du processus attentionnel et/ou motivationnel. Cependant, ces animaux ne manifestent pas plus un comportement de GT que les rats WT, indiquant que la valeur motivationnelle attribuée à la récompense n'est pas différente chez ces rats BACHD.

Dans la quasi-totalité des tests réalisés dans ce travail, les rats BACHD présentent un profil différent des rats WT à un stade précoce de la maladie. Or, nous avons montré que la plupart de ces tests sont dépendants de l'intégrité de l'amygdale et, en particulier du CeA. Ainsi, les rats BACHD apparaissent comme des animaux hyper-anxieux et hyper-réactifs, montrant des déficits attentionnels, symptômes qui pourraient être dus à des altérations de réseaux incluant le CeA ou au fonctionnement du CeA lui-même.

CHAPITRE 2 :

RÔLE DU NOYAU CENTRAL DE L'AMYGDALE DANS LES SYMPTÔMES ÉMOTIONNELS

CHAPITRE 2 : RÔLE DU NOYAU CENTRAL DE

L'AMYGDALÉ DANS LES SYMPTÔMES

ÉMOTIONNELS

I) Introduction

Maintenant que le phénotype émotionnel des rats transgéniques BACHD est mieux caractérisé et que ces animaux semblent être un bon modèle de la MH, il est important d'étudier quelle peut être l'origine précise de ces symptômes. D'après le chapitre précédent et les différentes données de la littérature, l'amygdale paraît être particulièrement impliquée dans ces troubles. Ainsi, ce deuxième chapitre a pour but d'établir un lien entre un dysfonctionnement de l'amygdale, et en particulier du CeA, et les symptômes émotionnels de la MH.

Tout d'abord, il est important que les conséquences de la mutation de la protéine mhtt soient évaluées au niveau cellulaire dans ce modèle BACHD. En effet, comme il l'a été expliqué précédemment, l'une des principales causes de neurodégénérescence et donc de dysfonctionnement cellulaire, est la présence d'agrégats de mhtt. Dans la première étude des rats BACHD (Yu-Taeger *et al.*, 2012), des agrégats ont été retrouvés au niveau de l'amygdale chez des animaux âgés de 12 mois. Dans le but de confirmer l'altération spécifique du CeA et de cibler la période à laquelle elle intervient, la première étude de ce chapitre consiste à réaliser une analyse comparative des noyaux amygdaliens (BLA et CeA) en fonction de l'âge des animaux (3 mois et 6 mois).

La deuxième partie de ce travail a pour objectif de montrer que l'altération spécifique du CeA des rats BACHD peut entraîner un comportement différent de celui des rats normaux dans une situation à forte valeur émotionnelle. La méthode utilisée est l'étude de l'impact de la modulation de l'activité du CeA sur les réponses comportementales dans le test d'évitement actif signalé.

Le principe de ce test est d'apprendre à exprimer une réponse instrumentale (un appui sur une barre) pour éviter un danger (un choc électrique) signalé par un stimulus auditif. Deux types de réponses comportementales sont en conflit, la première est une réponse de peur : le freezing (induit par la présentation du stimulus prédictif de choc électrique (conditionnement pavlovien)), la seconde est la réponse instrumentale nécessaire pour l'évitement du danger.

Dans ce test, l'animal doit alors « surpasser sa peur » pour émettre la réponse d'évitement. Cette tâche est donc une forme complexe de conditionnement qui comporte une composante pavlovienne (association SC-SI) et une composante instrumentale (appui sur la barre pour éviter le SI). Parce que le comportement d'évitement est une stratégie efficace pour répondre à une situation menaçante, il est souvent utilisé par des patients souffrant de troubles liés à la peur dans le but de réduire leur exposition aux situations provoquant peur et anxiété. Ainsi, un comportement d'évitement exagéré est souvent révélateur de troubles anxieux (Mineka & Zinbarg, 2006). Cette caractéristique est l'une des raisons pour laquelle notre étude s'est basée sur ce test. Par ailleurs, l'amygdale est particulièrement requise dans une tâche d'évitement actif signalé (Sarter & Markowitsch, 1985; El Massioui & Van Golf Racht-Delatour, 1997; Choi *et al.*, 2010; Lázaro-Muñoz *et al.*, 2010; Moscarello & LeDoux, 2013). En effet, dans l'étude de Lázaro-Munoz ainsi que celle de Choi, il est montré qu'une lésion du BA ou du LA, effectuée avant ou après l'apprentissage du test, réduit le nombre de réponses d'évitement. Ces deux structures sont donc nécessaires à l'acquisition et à l'expression des réponses d'évitement dans ce test. La lésion du CeA, quant à elle, ne perturbe pas les performances de ce test, quel que soit le moment de la lésion. Cependant, chez des animaux qui n'apprennent pas la réponse d'évitement, la lésion post-apprentissage du CeA induit une diminution des réponses de freezing et permet ainsi l'expression des réponses d'évitement chez les animaux qui n'en exprimaient pas lors de l'apprentissage (Choi *et al.*, 2010; Lázaro-Muñoz *et al.*, 2010). De plus, lors d'un changement de contexte, la lésion du CeA devient dans ce cas délétère pour l'expression des réponses d'évitement, suggérant que le CeA s'engage lorsque l'apprentissage associatif est particulièrement complexe (El Massioui & Van Golf Racht-Delatour, 1997). Finalement, Moscarello suggère que l'apprentissage de la réponse d'évitement au stimulus aversif s'acquiert grâce à l'activation du cortex préfrontal infralimbique qui inhibe le CeA responsable des réponses de freezing (Moscarello & LeDoux, 2013). Contrairement à un test d'évitement signalé plus classique (« two-way shuttle box »), où la réponse pour éviter le danger est une réponse instinctive (fuite), la réponse attendue dans notre tâche n'est pas innée, puisque les animaux doivent appuyer sur une barre qui pend du plafond. Cette différence a pour effet d'augmenter la difficulté d'apprentissage.

Dans un premier temps, pour vérifier que le niveau d'anxiété et les performances dans ce protocole sont spécifiquement dépendants du niveau d'activation du CeA, une modulation pharmacologique de l'activité du CeA et du BLA est réalisée sur des animaux normaux. Deux drogues, ayant des effets opposés, sont alors utilisées : le muscimol et la picrotoxine. Le muscimol est un agoniste des récepteurs GABA-A. C'est une drogue d'origine naturelle (produit par des champignons du groupe des amanites) qui était connue pour ses propriétés

hallucinogènes, et qui, de par sa grande affinité avec le récepteur GABA-A, est aujourd'hui souvent utilisée comme inhibiteur de la transmission neuronale. En effet, lorsque le muscimol se fixe sur son site, le récepteur GABA-A s'ouvre davantage et à une fréquence plus élevée. Les ions chlore chargés négativement entrent alors dans le cytoplasme de la cellule qui devient plus négative que le milieu extra-cellulaire, créant une hyperpolarisation (diminution de l'excitabilité) et donc une inhibition de la transmission neuronale. D'autre part, son effet inhibiteur assez long (de 12 à 24h) dont l'optimum se situe autour de 30 minutes après l'injection et sa dispersion minimale, n'affectant pas les fibres de passages, en font un agent pharmacologique de choix pour l'expérimentation (van Duuren *et al.*, 2007). Le muscimol a donc pour rôle de potentialiser l'effet inhibiteur du GABA dans la structure injectée. Dans le CeA, il réduit l'activité cellulaire et par conséquent on fait l'hypothèse qu'il réduit les réponses de peur et favorise les réponses d'évitement. Au contraire, la picrotoxine est un antagoniste des récepteurs GABA-A contenu dans le fruit d'un arbuste, la coque du levant. Une fois le GABA fixé sur son récepteur, la picrotoxine intervient pour diminuer le temps d'ouverture de ce canal ionique (Macdonald & Olsen, 1994). Ainsi, l'efficacité du GABA est réduite et la transmission neuronale est désinhibée. Dans le CeA, l'injection de picrotoxine induit une augmentation de l'activité cellulaire et l'hypothèse est qu'en conséquence les réponses de peur augmentent et les performances dans le test d'évitement actif signalé diminuent.

Ensuite, pour attester du dysfonctionnement du CeA de notre modèle, nous avons injecté la picrotoxine au niveau du CeA des rats BACHD effectuant ce test. Nous avons ainsi vérifié que les modifications comportementales induites par le changement d'activité du CeA sont différentes de celles observées chez les animaux normaux.

Finalement, l'activité cellulaire basale ou en réponse à un stimulus aversif des noyaux amygdaliens (immunoréactivité Arc) est analysée chez les rats BACHD et les rats WT. Le gène précoce d'activité *arc* code en effet pour une protéine Arc qui permet la modification de la structure des synapses (Guzowski, 2002). Ainsi plus qu'un marqueur d'activité cellulaire, la présence de la protéine Arc témoigne d'une activité synaptique et donc d'une certaine plasticité cellulaire. Au cours de notre étude, la plasticité cellulaire des deux parties principales du CeA (le CeL et le CeM) est aussi analysée après apprentissage de la tâche d'évitement actif signalé.

II) Article : Central amygdala dysfunction in BACHD rat model of Huntington disease

Charlotte Lamirault^{1,2*}, Libo Yu-Taeger^{3,4*}, Huu Phuc Nguyen^{3,4}, Olaf Riess^{3,4}, Valérie Doyère^{1,2} & Nicole El Massioui^{1,2}

(1) Univ Paris-Sud, Centre de Neurosciences Paris-Sud, UMR 8195, Orsay, F-91405, France

(2) CNRS, Orsay, F-91405, France

(3) Department of Medical Genetics, University of Tuebingen, Tuebingen, Germany

(4) Centre for Rare Diseases, University of Tuebingen, Tuebingen, Germany

*These authors contributed equally

Abbreviated title: Central Amygdala and Huntington disease

Pages: 26

Figures: 5

Abstract: 250 words

Key words: Anxiety, emotional disorder, rat, Huntington, amygdala, aggregates

Corresponding author: N. El Massioui, Centre de Neurosciences Paris Sud, Bat.446, Université Paris Sud, 91405 Orsay, France. Phone: 01 69 15 49 78; Fax: 01 69 15 77 26; email: nicole.elmassioui@u-psud.fr

Acknowledgments

This research was supported by an Eglise grant and by ANR TDE. We would like to thank Pascale Leblanc-Veyrac and Nathalie Samson for care of animals. We also would like to thank Daniel Toledano and Sylvie Granon for technical and scientific advices.

The authors declare no competing financial interests.

ABSTRACT

In Huntington's disease (HD), dysfunctional affective processes emerge as key symptoms of disturbances, particularly in the premanifest stages. In humans and transgenic rat model of HD, amygdala was previously shown to be reduced and to have a high load of mhtt aggregates. In search of the pathophysiology of affective dysregulation in HD, we hypothesized a specific role of the central amygdala (CeA), known to be particularly involved in emotional regulation. Using transgenic BACHD rats, a "full length" model of HD, we first measured the development of mhtt aggregates with age in two amygdala nuclei (the CeA and the basolateral nucleus of amygdala (BLA)). We then tested the effects of intra CeA or BLA injections of a GABA-A antagonist (picrotoxin) or agonist (muscimol) on emotional reactivity to threatening situations (signaled active avoidance and social interaction tasks) in WT and BACHD animals. Finally, we analyzed Arc neuronal reactivity in CeA and BLA to presentation of the aversive warning signal of the avoidance situation.

Results show that BACHD rats exhibit a particularly high age-related number and size of aggregates in CeA compared to BLA. At the behavioral level, local injections of picrotoxin reduced behavioral activity in WT rats, but induced an hyper-reactivity during the first avoidance session and during the social interaction test in BACHD animals. These results suggest a basal pathological hyper-activity in the CeA (in particular the medial part of this nucleus) in these transgenic animals. Such amygdala dysfunction could account, at least in part, for affective symptoms in HD patients.

INTRODUCTION

Huntington disease (HD) is an autosomal dominantly inherited, progressive neurodegenerative disorder, caused by an expanded CAG repeat of variable length in exon 1 of the gene encoding the protein huntingtin (htt). The primary neuropathological hallmark of the disease is atrophy and neuronal losses in the striatum (medium spiny neurons), but neurodegeneration is rapidly spreading to other brain structures (i.e. cortex and limbic structures). Beside cortico-striatal alterations, reduced activity in amygdala and hippocampus has been shown to be associated with impairments in emotion recognition intensity and accuracy in manifest HD patients (Dogan *et al.*, 2014). Similarly, atrophies and/or changes in grey matter volume in emotion-relevant and memory-related structures (insula, orbito-frontal cortex, amygdala and hippocampus) were observed correlated with emotion recognition deficits in symptomatic patients (Thieben *et al.*, 2002; Rosas *et al.*, 2003; Ille *et al.*, 2011; Dogan *et al.*, 2014). Before motor symptoms occur, psychiatric symptoms are observed with high prevalence such as agitation, anxiety and irritability (Litvan *et al.*, 1998), but also depression and/or apathy, associated with emotional dyscontrol (Paradiso *et al.*, 2008). Emotional deficits (in facial recognition and other domains) have also been described in clinical and preclinical stages of the disease (Sprengelmeyer *et al.*, 1996; Robotham *et al.*, 2011), and the question of the underlying neurobiological disorders remains open.

Several rodent models of HD reported anxiety and fear reactivity changes depending on the polyglutamine length in mutant htt and maturity of the disease (File *et al.*, 1998; Hickey *et al.*, 2005, 2008; Ciamei & Morton, 2008; Rudenko *et al.*, 2009). More recently, in a transgenic rat model of HD, which carries a truncated huntingtin cDNA fragment with 51 CAG repeats, a shrinkage of the central amygdala (CeA) associated with emotional blunting of hedonic perception and emotional alterations was observed (Faure *et al.*, 2011). In the BACHD transgenic rat model of HD, which expresses the full-length mutant huntingtin genomic DNA with 97 mixed CAA/CAG repeats, a high level of mhtt aggregates was described in cortex, hippocampus, nucleus accumbens, bed nucleus of stria terminalis and amygdala, associated with motor dyscontrol and anxiety-related symptoms from an early stage of the disease (Yu-Taeger *et al.*, 2012). These animals also show reduced emotional responses to a threatening conditioned stimulus from 3 months of age (Abada *et al.*, 2013), as well as a reduced impact of emotion (either positive or negative) on decision making in a gambling task compared to Wild Type (WT) animals (Adjeroud *et al.*, 2015). They also exhibit high levels of impulsivity in delay-dependent tasks (Manfré *et al.*, n.d.).

The present work aimed at assessing the potential role of amygdala in the emotional alterations seen in presymptomatic BACHD rats by questioning the role of two amygdala nuclei known to be involved in emotional processing: the basolateral (BLA) and the central (CeA) nuclei. To tackle this question, we aimed at: first, comparing the evolution with age (from 3 to 6 months) of mhtt aggregates in amygdala nuclei in BACHD rats; second, evidencing the role of amygdala during aversive and/or anxiety inducing tasks (signaled active avoidance and social interaction) by amygdala nuclei pharmacological modulation in 4.5 old WT and transgenic BACHD animals; third, analyzing the neuronal reactivity in these nuclei (Arc labelling) to a sensory signal having previously acquired an aversive value.

MATERIALS AND METHODS

Animals

Quantification of mhtt aggregation: 20 male rats (10 WT and 10 BACHD: 3 months or 6 months old) were used for immunohistology to quantify aggregates in Tuebingen laboratory. Rats were housed in a temperature- and humidity-controlled colony room and maintained under a 12:12h light/dark cycle with ad libitum access to water and food. All research and care procedures were approved by the district government, Tuebingen, Germany.

Signaled Active Avoidance (SAA) and Arc immunohistochemistry: 24 male rats (12 WT and 12 BACHD at 4.5 months of age) were provided from an in-house BACHD colony for Arc immunohistochemistry. Animals were housed at the same condition as described above.

Picrotoxin/ muscimol experiment: 50 WT male rats (Harlan, France) were used for behavioral and pharmacological studies. Animals were housed at the same condition as described above.

SAA and social interaction (SI) picrotoxin experiments: A cohort of 12 WT and 11 BACHD male rats was imported into the Orsay animal facility at the age of 2 months from Tuebingen University. Animals were housed at the same condition as described above.

All experiments were performed in accordance with the recommendation of the European Economic Community (EEC) and the French Ethics Committee for compliance and use of laboratory animals.

Quantification of mhtt aggregation in CeA and BLA:

Numerous studies indicate that disruption of neuronal connectivity, due to synaptic loss and early dendritic abnormalities, is the most robust pathological correlate of degenerative diseases with cognitive and/or emotional impact. The presence of mutated htt (mhtt)

aggregation sites could be one of the causes of neurodegeneration and thus, of both structural and functional neuronal alteration.

Immunohistochemistry and DAPI staining of mhtt aggregation: Immunohistological staining was performed as described (Yu-Taeger *et al.*, 2012). Rats were anesthetized and transcardially perfused with 4% paraformaldehyde in 0.1 M sodium cacodylate buffer at pH 7.4. All brains of transgenic rats and wild type controls at the same age were embedded in one gelatin block, and sectioned coronally at 40 μm (NeuroScience Associates). Sections were pretreated with 0.5% sodium borohydride (NaBH_4) followed by the permeabilization with 0.4% Triton-X 100, and then incubated with mouse monoclonal antibody EM48 (1:1000, Millipore, Germany) overnight at room temperature. The staining was amplified using biotinylated tyramine prior to final ABC step as described by Osmand and colleagues (2006). Immunoreactive products of anti-mhtt were visualized with DAB- H_2O_2 (0.01% DAB, and 0.001% hydrogen peroxide), while cell nuclei were identified by DAPI staining. In order to merge images, images of both DAPI and immunohistological stainings were taken using an Axioplan 2 Microscope (Zeiss) with a digital camera (AxioCamMRm, Zeiss) and imaging acquisition software (AxioVision-6, Zeiss).

Quantification of mhtt aggregation in CeA and BLA: Mutant mhtt aggregation was quantified in CeA nucleus and BLA complex of amygdala in BACHD rats at 3 and 6 months of age ($n=5$ in each region at each time point), wild type rats at same age were taken as control. Every 6th brain section through the amygdala was selected for the staining, whereas 3 of those possessing most abundant aggregates of htt at approximately Bregma -2.40 mm and Bregma -3.24 mm were chosen for the quantification in CeA and BLA, respectively. Using NIH ImageJ software, the following factors were analyzed: Aggregates size, number of aggregates and cell nuclei, as well as intensity of mhtt immunoreactivity. Both number of aggregates and intensity of immunoreactivity were normalized to the cell number. For statistical analysis, data were expressed as mean \pm SEM and analyzed using one-way ANOVA using GraphPad Prism (Version 6, GraphPad software, USA).

Signaled Active Avoidance (SAA):

In the active avoidance task, rats have to give an instrumental response (pushing a bar) to stop a warning signal (WS) (avoidance response) or to stop shocks (escape response). During the initial trials, when rats did not know yet the avoidance response, the pavlovian association between the WS and the shock makes the situation highly aversive. Then, as rats learn the

avoidance response and its association with “no shock”, the level of stress induced by the WS decreased (Rescorla & Solomon, 1967).

Rats were placed in Skinner boxes (Coulbourn; 34.3 x 34.3 x 50.8 cm) in a dark sound attenuating cubicle, ventilated by an exhaust fan mounted on the back wall (background noise intensity 60 dB). The floor of the chambers was composed of 18 rods (0.47 cm in diameter made out of stainless steel and spaced 0.95 cm apart) through which shocks could be delivered (0.25 mA on the first session, 0.3 mA on the following sessions). A loudspeaker was mounted in the wall and an auditory stimulus (7 KHz, 80 dB) could be delivered and served as a warning signal (WS). A red light, located at the top of the right wall, remained lit during all learning sessions. A bar hanging from the middle of the ceiling can be pushed (instrumental response).

On the first day, animals were placed in Skinner boxes without the bar for 20 minutes. On the second day, avoidance training began: each session (10 or 20 trials separated by variable intertrial intervals: 90 to 260 seconds with a mean duration of 3 minutes) lasted between 25 and 50 minutes depending on animals' performances. Pushing the bar during the first 20 seconds of the tone cancelled all shocks for that trial (avoidance response). Pushing the bar during the last 20 seconds of tone, i.e. after the onset of the shocks stopped the tone and the shocks on that trial (escape response). The number of avoidance and escape responses and the number of responses during the inter trial intervals were recorded (Graphic State, Coulbourn).

Social Interaction (SI):

The SI test has been extensively used to assess anxiety-related behaviors by analyzing the time spent in social contacts between the experimental animal and an unfamiliar conspecific in a novel environment. The social interaction test involves an unconditioned response to a potential threat.

This test was composed of two phases: first, during a 5 minutes habituation phase, two small empty wire-cages (20cm length x 15cm width x 14cm height) were placed on each side of an open field (OF; 1m x 1m x 50cm height). Second, rats were removed from the OF and objects (legos) were placed in one cage and an unfamiliar conspecific in the other cage. Rats can immediately explore this new configuration for 10 minutes. The time of sniffing the object and the rat and the total distance travelled in the arena were recorded.

SAA, SI and amygdala modulation:

Picrotoxin is an antagonist of the GABAA receptor which induces a modification of the GABAR protein architecture and modifies the permeability in the chlorine (Olsen & Tobin, 1990; DeLorey & Olsen, 1992). Such pharmacological manipulations that decrease GABAergic transmission is known to induce anxiogenic-like effects (Cole *et al.*, 1995; Sanders & Shekhar, 1995; Clénet *et al.*, 2005; Kulkarni *et al.*, 2007). In contrast, muscimol is a GABAA agonist used to inactivate local brain regions. It has been shown that systemic or local treatments increasing GABAergic transmission produce anxiolytic effects (Nagy *et al.*, 1979; Harris & Westbrook, 1995).

Picrotoxin or muscimol were first injected in CeA or BLA in intact rats in order to assess their effects on SAA. Then, picrotoxin was used to modulate amygdala activity in BACHD rats and measure its behavioral effects in SAA and SI tasks. In the SAA picrotoxin/muscimol experiment, 8 rats were injected with saline solution, 8 rats with picrotoxin and 8 rats with muscimol solution in the BLA and 8 rats were injected with saline solution, 8 rats with picrotoxin and 10 rats with muscimol solution in the CeA. In the SAA and SI picrotoxin experiments, 6 WT and 5 BACHD rats were injected with saline solution, whereas 6 WT and 6 BACHD rats were injected with picrotoxin.

Surgery: 50 WT rats (control experiment) and 23 rats (SAA and SI experiments: 12 WT and 11 BACHD) were first injected with tolfedine (0.05mL subcutaneous) and then with 0.1 ml of atropine (0.25 mg/ml, i.m, Laboratory Aguettant, Lyon) to prevent respiratory problems. Twenty minutes later, they were anesthetized with pentobarbital (0.1 ml / 100 g, i.p, Ceva Santé Animale, Libourne). Guide cannulae (11 mm length, 0.46 mm external and 0.26 mm internal diameters; Plastic One) were implanted bilaterally, 1 mm above the central nucleus of amygdala at coordinates relative to Bregma: AP: -2.10 mm; ML: \pm 3.8 mm; DV: -6.5 mm from dura mater or 1 mm above the basolateral amygdala at co-ordinates relative to Bregma: AP: -3.24 mm; ML: \pm 5.1 mm; DV: -7.8 mm from dura mater (Paxinos & Watson, 1986). Guides were fixed to the skull by dental cement (Dentalon plus) and were plugged with 12 mm long removable dummy cannulae (diameter: 0.21 mm, Plastic One) preventing clogging of the guide cannulae. Finally, animals received 0.1 ml of antibiotic (subcutaneous) to prevent post-surgery infections.

Injection procedure and behavioral assessment: 10 minutes before the 5 first sessions of SAA or before the SI session, rats were gently restrained by hand while the dummy cannulae were removed. Bilateral injections were made through an internal cannulae (diameter: 0.21 mm ext. and 0.11 int.) inserted into the guide such that the tip protruded about 1mm. Internal cannulae were connected to a 10 μ l Hamilton syringe via a catheter. The Hamilton syringe itself

was placed on a push syringe (INFU 632), which enabled slow delivery, either 0.2 μ l in CeA or 0.4 μ l in BLA, of saline solution (0.9 %,) or muscimol (175 pmol / 200 nL, dissolved in saline solution) or picrotoxin (15 pmol / 200 nL, dissolved in saline solution) at a constant rate of 0.1 μ l/min. Once the injection was completed, the internal cannulae remained in place for an additional minute to allow diffusion of the solution. The internal cannulae were then replaced by the dummy cannulae. 10 minutes after picrotoxin and saline injections or 20 minutes after muscimol injections, rats were placed in the experimental device to assess behavior. In the SAA picrotoxin/muscimol experiment, all rats were injected before the 5 first sessions and were then trained for 20 more days without injections. In the SAA experiment with transgenic rats, all rats were injected with picrotoxin before the 5 first sessions and were trained for 8 more sessions without injections. In the SI experiment, all rats received a unique injection of picrotoxin before the test session.

Histology for cannulae positions: After behavioral tests, all rats were sacrificed by a lethal dose of pentobarbital. Brains were removed and fixed in 18% formaldehyde for 24 hours at 4 °C. After cryprotection in a 30% sucrose solution for 3 days, brains were stored at -20°C until sectioning. Coronal brain sections (40 μ m) were stained with Cresyl violet to assess cannulae locations.

SAA and Arc staining in the CeA and the BLA:

Behavior: After 5 days of SAA training, rats were separated in 2 groups: in the reactivated group (R; 6 WT and 6 BACHD), rats were placed in the Skinner box and, after 1 minute, the WS was presented for 20 seconds. A bar-press stopped the session. In case of no response, the WS lasted 20 seconds and no shocks were delivered. 90 minutes after this session, rats were anesthetized with pentobarbital for brain processing; in the non-reactivated group (NR; 6 WT and 6 BACHD), rats were directly taken in their home cage and anesthetized with pentobarbital for brain processing.

Immunohistochemistry: All animals were perfused transcardially with 100 ml of 0.9% sodium chloride containing 5% heparine and 1% sodium nitrite, followed by 300 ml of cold 4% paraformaldehyde (4°C) in 0.1M phosphate buffer (PB). Brains were removed, post-fixed for 24 hours at 4°C in the same fixative, and immersed in a graded series of sucrose phosphate-buffered solutions (12%, 16% and 18%). Serial coronal sections (40 μ m thick) were cut with a microtome and collected in an anatomical series. Arc positive cells were quantified in BLA complex and CeA nuclei: CeL and CeM. Every 6th brain section was collected in 0.1 M PB solution for the immunohistochemistry. To BLA, 5 sections per rat were used to the Arc staining

(Bregma : -2.4; -2.52 ; -2.64 ; -2.76 and -2.92). To CeA, 5 sections per rat were also used to the Arc staining (Bregma : -1.8; -1.92 ; -2.04 ; -2.16 and -2.28). Arc was visualized with anti-Arc primary antibody (1:500; C-7 mouse monoclonal IgG2a, Santa Cruz Biotechnology), biotinylated anti-mouse secondary antibody (1:500; Vector Laboratories), VECTASTAIN ABC Kit (Vector Laboratories), and 3,3'-diaminobenzidine (DAB, 1:1000, Sigma).

Statistics

Data were analyzed with contrast analysis of variance (ANOVAs) (Rouanet, 1990).

RESULTS

Huntingtin aggregates increase with ageing in the CeA but not the BLA

One-Way ANOVA revealed strong statistical significances in all three investigated factors (aggregates size, number and the intensity of mhtt immunoreactivity). Subsequent Tukey's multiple-comparison test determined that these significances were due to the differences of aggregates abundance between central and basolateral nuclei ($p < 0.01$ for aggregates size; $p < 0.0001$ for both aggregates number and intensity of staining) as well as in central nucleus between different ages ($p < 0.01$ for aggregates size; $p < 0.0001$ for both aggregates number and intensity of staining) (Figure 1). These results demonstrated an increased mhtt aggregation specifically in CeA during disease process, showing more abundance in it compared to basolateral nucleus.

SAA after picrotoxin or muscimol injections in the CeA and the BLA

Avoidance (upper curves) and total responses (lower curves) were separately analyzed. Total responses were supposed to represent locomotor activity induced by the WS presentation.

Behavior after injections in the BLA (Figure 2, left panels): groups with NaCl, picrotoxin or muscimol injections showed an increased number of avoidance and total responses across sessions (avoidances : $F(4,28)=8.91$, $p < .01$; $F(4,28)=4.04$, $p < .05$; $F(4,28)=10.14$, $p < .01$, respectively; total responses : $F(4,28)=5.92$, $p < .005$; $F(4,28)=2.85$, $p < .05$; $F(4,28)=6.19$, $p < .005$, respectively), with no drug effect and no Drug x Session interactions ($F_s < 1$).

Behavior after injections in the CeA (Figure 2; right panels): similarly, all groups increased their number avoidance and total responses across sessions (avoidances : NaCl: $F(4,28)=8.91$, $p < .01$; Picrotoxin: $F(4,28)=4.04$, $p < .05$; muscimol: $F(4,36)=11.45$, $p < .01$; total responses : NaCl: $F(4,28)=6.76$, $p < .005$; Picrotoxin: $F(4,28)=3.73$, $p < .05$; muscimol: $F(4,36)=4.64$, $p < .01$) with no Drug x Session interactions ($F < 1$). Compared to NaCl injected animals, picrotoxin injected rats exhibited a lower number of avoidance and total responses across sessions, difference which did not reach statistical level ($F(1,14)=3.16$, ns). However, picrotoxin injected rats tended to avoid less than animals injected with muscimol ($F(1,16)=3.80$, ns) and showed a significant decrease of total responses ($F(1,16)=5.67$, $p < .05$). The difference between animals injected with NaCl and muscimol was not significant (avoidances: $F(1,16)=0.06$, ns ; total responses : $F(1,16)=0.51$, ns). Thus, muscimol had no statistical effect on avoidance behavior, whereas the anxiogenic effect of picrotoxin induced a reduction of avoidance responses, only when injected in the CeA.

SAA and SI after picrotoxin injections in the CeA of WT and BACHD rats

Signaled active avoidance: To assess the specific effects of picrotoxin on SAA, we analyzed separately responses during the whole signal duration (avoidance + escape periods; Figure 3B) on the first learning session and the evolution of avoidance response across training (Figure 3C). Picrotoxin injections before the first learning session induced a clear decrease of the number of responses during the tone in WT animals ($F_{(1,10)}=5.91$, $p<.05$). In contrast, in BACHD rats, picrotoxin increased the number of responses during the tone ($F_{(1,9)}=21.63$, $p<.001$). There was a genotype effect ($F_{(1,10)}=79.02$, $p<.001$) and a significant Drug x Genotype interaction ($F_{(1,19)}=20.04$, $p<.001$). During ITI, there were no genotype or drug or interaction effects ($F_s<1$) suggesting that the increased reactivity in picrotoxin injected BACHD rats was specific to the threatening WS.

Analyses of the following learning sessions (sessions 3 to 13; Figure 3C) show that, in WT rats, picrotoxin injections prevented avoidance learning compared to NaCl injections ($F(1,10)=9.50$, $p<.05$). This difference was not significant in BACHD rats ($F<1$). NaCl injected animals progressively increased their rate of avoidance responses ($F(10,90)=4.40$, $p<.05$) while picrotoxin injected groups did not ($F<1$). There was a Drug x Sessions interaction ($F(10,190)=3.05$, $p<.001$), no main effect of genotype and no Drug x Genotype interaction ($F_s<1$). There was also no main effect of either genotype or drug during the ITI periods ($F_s<1$).

Social interaction: During the 5 min of habituation to the OF, there was no drug or genotype or interaction effects ($F_s<1$). The difference between contacts with the unknown conspecific (sniffing behavior) during habituation and test was calculated for each group (Figure 4). All rats spent little time to explore the object with no genotype or drug effects ($F_s<1$) and the time of sniffing the conspecific was similar for both NaCl injected groups ($F<1$). Picrotoxin tended to decrease contacts with the conspecific in WT rats ($F(1,9)=3.04$, ns), whereas it significantly increased it in BACHD animals (vs picrotoxin injected WT: $F(1,10)=8.31$, $p<.05$; vs NaCl injected BACHD rats: $F(1,9)=16.53$, $p<.01$). There was a significant Drug X Genotype interaction ($F_{(1,19)}=10.33$, $p<.01$), highlighting the differential effect of picrotoxin on behavior as a function of genotype.

SAA and Arc staining in the CeA and the BLA

Avoidance training and reactivation test: There was no difference in avoidance responses between genotypes during the 5 training days ($F(1,22)=1.19$, ns) and no evolution of performance during the 5 sessions ($F(4,88)=1.61$, ns). The proportion of animals pushing the bar to the tone during the reactivation test was similar for the two groups ($p>.05$).

Arc staining in the BLA (Figure 5, left histograms): Presentation of the WS after five days of avoidance training provoked an increase of cellular activation for WT and BACHD rats

($F(1,20)=5.22$, $p<.05$), with no genotype difference and no Reactivation x Genotype interaction ($F_s<1$).

Arc staining in the CeL (Figure 5, middle histograms): As for the BLA, presentation of the WS induced an increase of neuronal activation which, however, failed to reach statistical significance ($F(1,20)=4.04$, ns). There was no genotype difference and no Genotype x Reactivation interaction ($F_s<1$).

Arc staining in the CeM (Figure 5, right histograms): Presentation of the WS increased the number of Arc labelled cells ($F(1,20)=5.86$, $p<.05$), with a significant difference between WT and BACHD animals ($F(1,20)=5.63$, $p<.05$). The increased number of labelled cells after presentation of the WS reached the statistical level for BACHD rats ($F(1,10)=5.016$, $p<.05$) but not for the WT animals ($F(1,10)=1.29$, ns). There was no Reactivation x genotype interaction ($F<1$).

DISCUSSION

The aim of this study was to assess the role of the amygdala, and more specifically of the BLA and the CeA, in processing threatening stimuli or situation in our transgenic rat model of Huntington disease.

The first interesting result provided by the present experiments is the marked increase of the number and size of aggregates selectively in the CeA between 3 and 6 months of age in BACHD rats. Mutant huntingtin is expressed ubiquitously and appears to localize similarly to the wild type protein (Aronin *et al.*, 1995). It impairs axonal transport as well as presynaptic vesicle release (Li *et al.* 2001; Szebenyi *et al.* 2003; Trushina *et al.* 2004). Indeed, a close relation between the quantity of aggregates and a loss of dendritic spines has been demonstrated (Richards *et al.*, 2011). In HD transgenic mice, synaptic loss has been observed along with a high aggregate load in the neuropil (Gutekunst *et al.*, 1999). It is worth noting that reducing the levels of mhtt aggregates in the neuropil of HD transgenic mice ameliorates their neurological phenotype (Wang *et al.*, 2008). In BACHD rats, numerous dark degenerating neurons and dendrites were found in brain regions where prominent numbers of aggregates were present. Furthermore, dark neurons and dendrites containing aggregates were frequently observed together suggesting a connection between aggregate formation and neurodegeneration (Yu-Taeger *et al.*, 2012). Thus, even though the exact role and actions of aggregates in neurons are not known, the present high level of mhtt aggregates quantified in the CeA suggests first a particular sensitivity of this nucleus compared to the BLA during the progression of the pathology and second a probable deleterious role of these aggregates in CeA cellular function.

At a functional level, injections of picrotoxin in normal animals induced an inhibitory effect on performances when injected in the CeA (and not in the BLA), reducing the total number of responses and preventing avoidance learning. Even though we did not record freezing to the WS during learning, the reduced total number of responses (bar movements during the whole WS) reflects inhibited animals' locomotor activity compared to NaCl injected animals. This reduced behavioral activity following injections of GABA-A antagonist is coherent with previous studies. What is more interesting, however, is the differential effect between CeA and BLA, injections in the BLA having no effect in our task. The same difference between CeA and BLA appeared with muscimol injections, with a slight expected excitatory effect when injected in the CeA, inducing a transitory increase of total and avoidance responses.

However, a more intriguing result is the differential effect of picrotoxin in the CeA of WT and BACHD rats during the first session of avoidance learning as well as during the interaction test. In both tasks, picrotoxin induced the expected inhibitory behavioral effect in WT rats by

decreasing the number of bar pushing to the WS from the first session and reducing the sniffing time of the conspecific in the SI task. In contrast, picrotoxin injections in BACHD rats induced a surprising excitatory behavioral effect, resulting in a huge increase of the number of responses to the WS in the SAA task and an increased sniffing time of the conspecific in the SI task. However, repetition of picrotoxin injections (during 5 consecutive days) finally prevented both WT and BACHD animals to learn the avoidance response, which could indicate that the BACHD's hyperactivity during the very first session was resulting from unconditioned locomotor responses induced by the threatening WS predicting electric foot shocks but also by novelty.

In active avoidance task, the central nucleus of amygdala seems to have a major role in mediating the competition between Pavlovian responses such as freezing and instrumental responses, such as avoidance. Rats expressing high rate of freezing during learning, and thus no avoidance, can finally express avoidance responses after having been submitted to a CeA lesion, suggesting that hyper activity in CeA can inhibit the instrumental performance mainly by favoring freezing responses (Choi *et al.*, 2010; Lázaro-Muñoz *et al.*, 2010). Furthermore, it has been proposed that the CeA is essentially required for the establishment of stress-induced hyper-anxiety and consequent modulation of circulating corticosteroids (Ventura-Silva *et al.*, 2013). During the first session of avoidance in our experimental situation, pavlovian responses due to the WS-electric foot shocks association prevail over the instrumental responses which are not yet fully acquired, thus inducing a highly stressful situation (Rescorla & Solomon, 1967). When picrotoxin was injected in the CeA, which has a vast majority of GABAergic neurons, it decreases GABA efficiency (reduces inhibition), induces an increase of neuronal activity within this nucleus (McDonald, 1982; Larry W. Swanson and Gorica D. Petrovich, 1998), and consequently induces an increase of the animals' anxiety level (Sanders & Shekhar, 1995). Thus, in our task, this picrotoxin induced high anxiety level provoked an opposing effect in WT and BACHD animals: behavioral inhibition in WT animals and behavioral excitation in BACHD rats. In BACHD rats, the observed increased locomotor activity, suggesting a "flight" reaction, indicates a basal pathological neuronal hyper-activity in the CeA of these transgenic animals. However, as learning progress, the threat induced by the avoidance situation decreased and BACHD rats recovered performance similar to WT.

Complementary arguments to pharmacological data indicating a pathological state of CeA neuronal activity comes from the increased neuronal reactivity (Arc labelling) to the fearful WS in the medial part of the CeA (CeM) in BACHD animals compared to WT. The lateral part (CeL) and the median part (CeM) of the CeA are functionally different due to their separate

connectivity with other brain structures. The CeL is considered as the input part of the CeA since it receives afferences from prefrontal and sensory cortices and from BLA and projects on the CeM. The CeM, considered as the output part of the CeA, projects on structures involved in the expression of emotional behavior, as hypothalamus, vagus nerve, PAG and BNST. Thus, CeL projects onto CeM and functions as an inhibitory interface whose local inhibition tightly gates CeM outputs (Ehrlich *et al.*, 2009). The observed CeM hyper-activity in our results thus suggest a deficit of this inhibitory gating from CeL on CeM.

Thus, two different processes could account for CeA hyperactivity in BACHD rats. First, there could be a default of inhibitory gating within the CeA due to an imbalance between the different parts of the nucleus which could provoke increased activity in target structures involved in both phasic (fear) and sustained (anxiety) fear (Davis *et al.*, 2010). However, an alternative view would hypothesize that amygdala dysfunction could be a result of its inadequate inhibition by prefrontal centers (Drevets, 2003). In humans, decreased prefrontal cortex activity has been shown to be associated with increased amygdala activity (Drevets, 1999). In rats, evidence supports this hypothesis and show that the medial prefrontal cortex modulates fear responses by changing amygdala output (Garcia *et al.*, 1999; LeDoux, 2000; Milad & Quirk, 2002). In BACHD rats, a high rate of mhtt aggregates was also shown in cortical areas including the prefrontal part (Yu-Taeger *et al.*, 2012), thus giving arguments to support also the second hypothesis.

In sum, given the differences observed between WT and BACHD rats, it can be assumed that this transgenic rat model recapitulates at least some of the cognitive/psychiatric impairments already seen in early symptomatic HD patients and that these can rely on central amygdala dysfunction. Thus, the present results add arguments to BACHD rats as a valid model of Huntington disease allowing, in a near future, further neurobiological dissection of presymptomatic emotional symptoms.

FIGURES

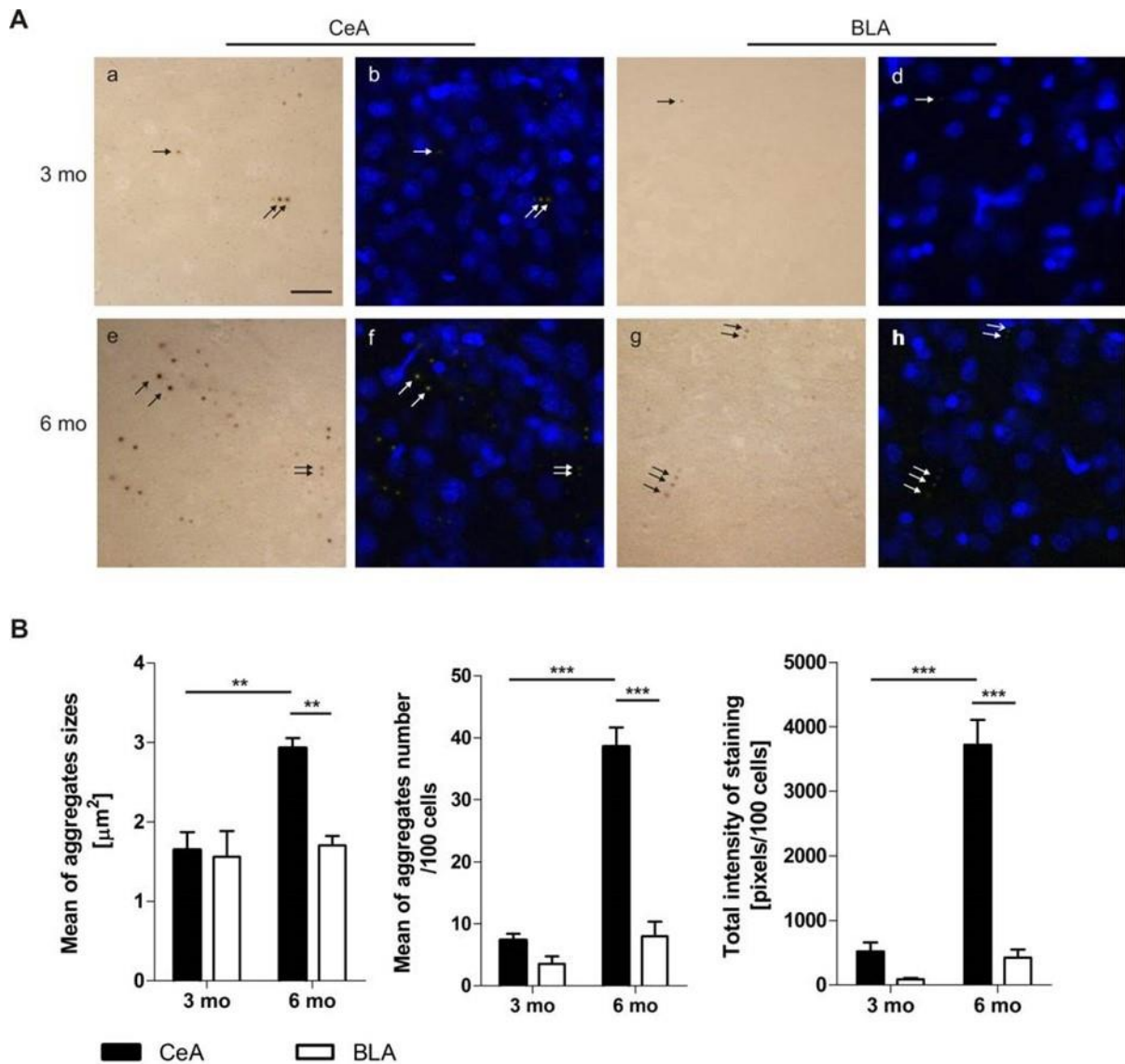


Figure 1: Spatio-temporal aggregation of mhtt in the central (CeA) and basolateral (BLA) nuclei of the amygdala in BACHD rats. A: Immunoreactivity of mhtt in CeA and BLA of BACHD rats at 3 and 6 months of age. a, c, e and g: immunohistological staining with monoclonal antibody EM48; b, d, f and h: corresponding merged images of inverted EM48 staining and DAPI staining. Arrows (brown in histological images and white in merged images): mhtt aggregates. B: Quantification of aggregates' size and normalized (to cell number) number of aggregates as well as total intensity of mhtt immunoreactivity in CeA (black) and BLA (white) at 3 and 6 months of age. Scale bar: 20 μm ; Data are presented as mean \pm SEM; ** $p < 0.01$, *** $p < 0.0001$.

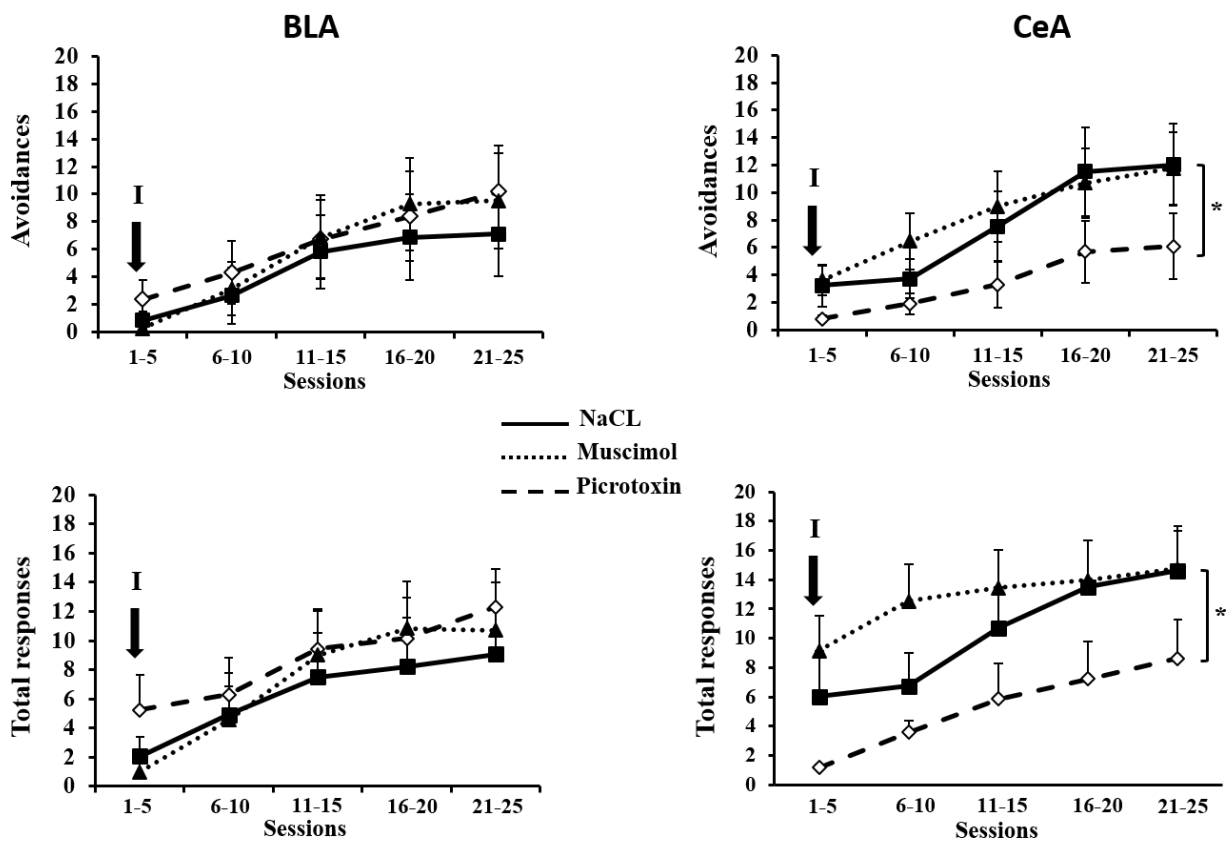


Figure 2: GABA-A agonist (muscimol) and antagonist (picrotoxin) in the BLA and CeA during signal active avoidance. Mean number of avoidance responses (upper curves) and mean total number of bar pushing (lower curves) during blocks of 5 sessions. I indicates that the different drugs (NaCl, muscimol, picrotoxin) were injected 10 minutes before the 5 first sessions of training. Data are presented as mean \pm SEM; * $p < 0.05$.

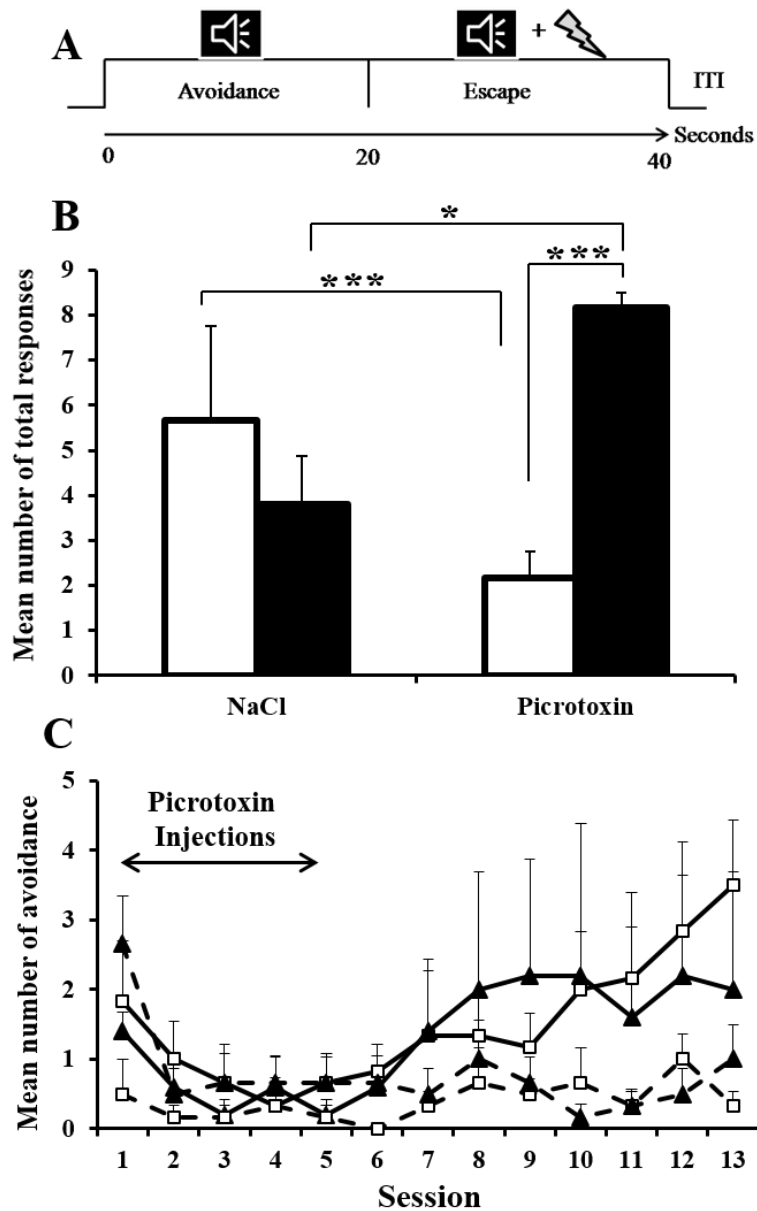


Figure 3: Active avoidance task. A. Schematic representation of active avoidance paradigm. B. Mean number of responses during the total 40 seconds warning signal during the first learning session in WT (white) and BACHD rats (black). C. Mean number of avoidance responses during the 13 sessions of learning in WT (black squares) and BACHD rats (white triangles) injected with NaCl (black lines) or picrotoxin (dotted lines). Picrotoxin injections, 10 minutes before onset of the 5 first sessions, are represented by black arrows. Data are presented as mean \pm SEM; * $p < 0.05$, *** $p < 0.0001$.

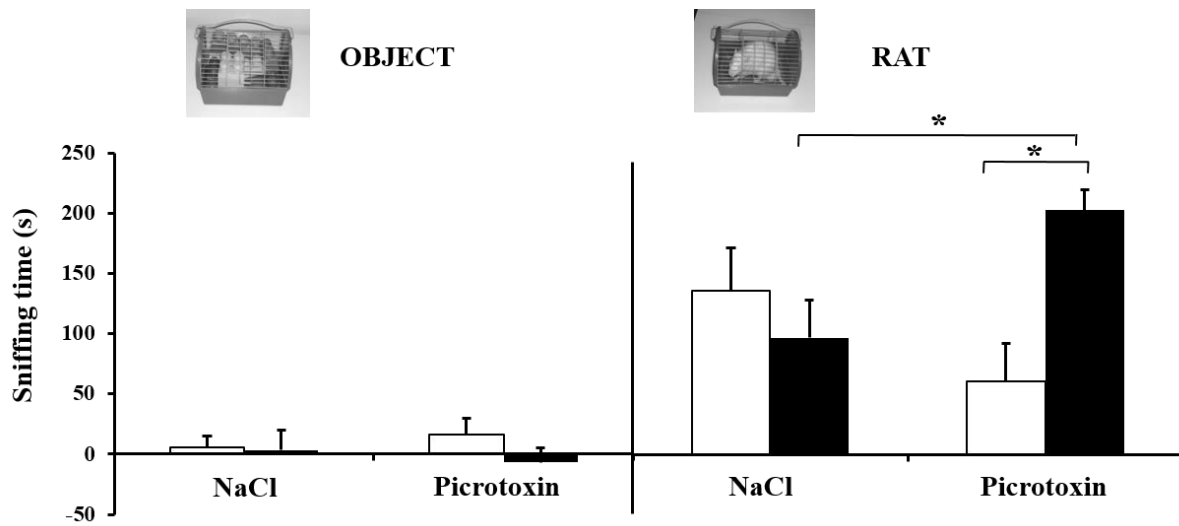


Figure 4: Social Interaction. Difference in time of sniffing objects (left) and conspecific (right) between the habituation phase and the test phase in WT (white) and BACHD rats (black). Data are presented as mean \pm SEM; * $p < 0.05$.

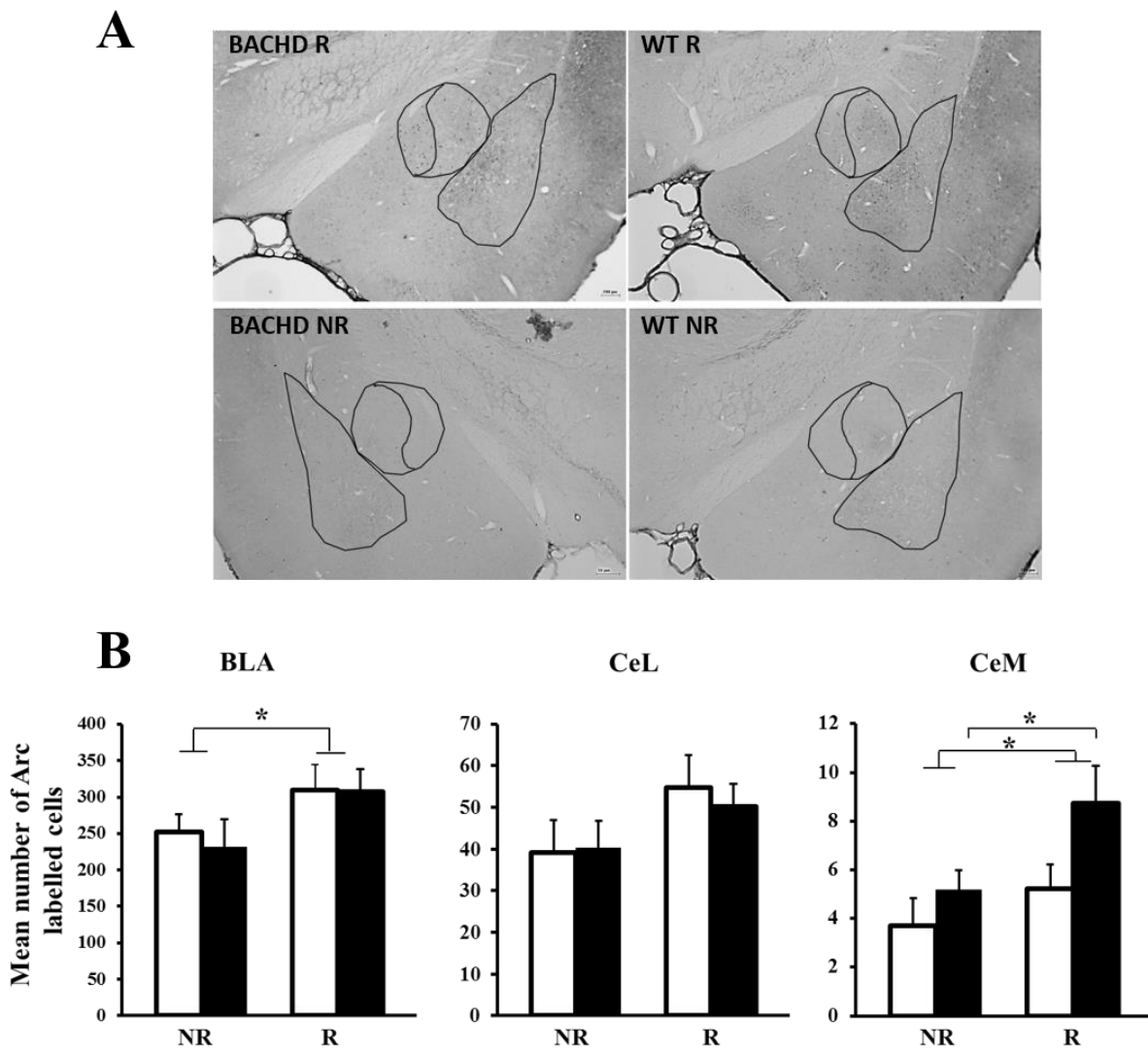


Figure 5: Arc labelling after 5 signal avoidance sessions. A: microphotographs of amygdala (CeA and BLA): left photos show Arc reactivity after WS presentation in BACHD animals (BACHD R) or no reactivation by the WS (BACHD NR); right photos show Arc reactivity in WT rats after WS presentation (WT R) or no reactivation by the WS (WT NR). B: histograms represent the mean number of Arc labelled cells in the BLA (left histograms) and in the CeA (central histograms: CeL; right histograms: CeM). NR: no reactivation by the WS. R: reactivation by the WS. Data are presented as mean \pm SEM; * $p < 0.05$.

REFERENCES

- Abada, Y.-S.K., Nguyen, H.P., Ellenbroek, B., & Schreiber, R. (2013) Reversal Learning and Associative Memory Impairments in a BACHD Rat Model for Huntington Disease. *PLoS One*, **8**, e71633.
- Adjeroud, N., Besnard, J., El Massioui, N., Verny, C., Prudean, A., Scherer, C., Gohier, B., Bonneau, D., & Allain, P. (2015) Theory of Mind and Empathy in Preclinical and Clinical Huntington's Disease. *Soc. Cogn. Affect. Neurosci. Theory*.
- Aronin, N., Chase, K., Young, C., Sapp, E., Schwarz, C., Matta, N., Kornreich, R., Landwehrmeyer, B., Bird, E., Beal, M.F., Vonsattel, J., Smith, T., Carraway, I.I.R., Boyce, F.M., Young, A.B., Penney, J.B., & Difigliati, M. (1995) CAG Expansion Affects the Expression of Mutant Huntingtin in the Huntington's Disease Brain. *Neuron*, **15**, 1193–1201.
- Choi, J.S., Cain, C.K., & LeDoux, J.E. (2010) The role of amygdala nuclei in the expression of auditory signaled two-way active avoidance in rats. *Learn. Mem.*, **17**, 139–147.
- Ciamei, A. & Morton, A.J. (2008) Rigidity in social and emotional memory in the R6/2 mouse model of Huntington's disease. *Neurobiol. Learn. Mem.*, **89**, 533–544.
- Clénet, F., Hascoët, M., Fillion, G., Galons, H., & Bourin, M. (2005) Role of GABA-ergic and serotonergic systems in the anxiolytic-like mechanism of action of a 5-HT-moduline antagonist in the mouse elevated plus maze. *Behav. Brain Res.*, **158**, 339–348.
- Cole, B., Hillmann, M., Seidelmann, D., Klewer, M., & Jones, G. (1995) Effects of benzodiazepine receptor partial inverse agonists in the elevated plus maze test of anxiety in the rat. *Psychopharmacology (Berl.)*, **121**, 118–126.
- Davis, M., Walker, D.L., Miles, L., & Grillon, C. (2010) Phasic vs sustained fear in rats and humans: role of the extended amygdala in fear vs anxiety. *Neuropsychopharmacology*, **35**, 105–135.
- DeLorey, T.M. & Olsen, R.W. (1992) γ -Aminobutyric Acid-A Receptor Structure and Function*. *J. Biol. Chem.*, **267**, 16747–16750.
- Dogan, I., Saß, C., Mirzazade, S., Kleiman, A., Werner, C.J., Pohl, A., Schiefer, J., Binkofski, F., Schulz, J.B., Shah, N.J., & Reetz, K. (2014) Neural correlates of impaired emotion processing in manifest Huntington's disease. *Soc. Cogn. Affect. Neurosci.*, **9**, 671–680.
- Drevets, W.C. (1999) Prefrontal Cortical-Amygdalar Metabolism in Major Depression. *Ann N Y Acad Sci.*, **29**, 614–637.
- Drevets, W.C. (2003) Neuroimaging Abnormalities in the Amygdala in Mood Disorders. *Ann N Y Acad Sci*, **985**, 420–444.
- Ehrlich, I., Humeau, Y., Grenier, F., Ciochi, S., Herry, C., & Lüthi, A. (2009) Amygdala inhibitory circuits and the control of fear memory. *Neuron*, **62**, 757–771.
- Faure, a, Höhn, S., Von Hörsten, S., Delatour, B., Raber, K., Le Blanc, P., Desvignes, N., Doyère, V., & El Massioui, N. (2011) Altered emotional and motivational processing in the transgenic rat model for Huntington's disease. *Neurobiol. Learn. Mem.*, **95**, 92–101.

- File, S.E., Mahal, A., Mangiarini, L., & Bates, G.P. (1998) Striking changes in anxiety in Huntington's disease transgenic mice. *Brain Res.*, **805**, 234–240.
- Garcia, R., Vouimba, R.M., Baudry, M., & Thompson, R.F. (1999) The amygdala modulates prefrontal cortex activity relative to conditioned fear. *Nature*, **402**, 294–296.
- Gunawardena, S., Her, L.-S., Bruschi, R.G., Laymon, R.A., Niesman, I.R., Gordesky-Gold, B., Sintasath, L., Bonini, N.M., & Goldstein, L.S.B. (2003) Disruption of axonal transport by loss of huntingtin or expression of pathogenic polyQ proteins in *Drosophila*. *Neuron*, **40**, 25–40.
- Gutekunst, C., Li, S., Yi, H., Mulroy, J.S., Kuemmerle, S., Jones, R., Rye, D., Ferrante, R.J., Hersch, S.M., & Li, X. (1999) Nuclear and Neuropil Aggregates in Huntington's Disease: Relationship to Neuropathology. *J. Neurosci.*, **19**, 2522–2534.
- Harris, J. & Westbrook, R. (1995) Effects of benzodiazepine microinjection into the amygdala or periaqueductal gray on the expression of conditioned fear and hypoalgesia in rats. *Behav. Neurosci.*, **109**, 295–304.
- Hickey, M., Gallant, K., Gross, G.G., Levine, M.S., & Chesselet, M.F. (2005) Early behavioral deficits in R6/2 mice suitable for use in preclinical drug testing. *Neurobiol. Dis.*, **20**, 1–11.
- Hickey, M., Kosmalska, A., Enayati, J., Cohen, R., Zeitlin, S., Levine, M.S., & Chesselet, M.-F. (2008) Extensive early motor and non-motor behavioral deficits are followed by striatal neuronal loss in knock-in Huntington's disease mice. *Neuroscience*, **157**, 280–295.
- Ille, R., Schäfer, A., Scharmüller, W., Enzinger, C., Schögl, H., Kapfhammer, H.-P., & Schienle, A. (2011) Emotion recognition and experience in Huntington disease: a voxel-based morphometry study. *J. Psychiatry Neurosci.*, **36**, 383–390.
- Kulkarni, S.K., Singh, K., & Bishnoi, M. (2007) Elevated zero maze: a paradigm to evaluate antianxiety effects of drugs. *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol.*, **29**, 343–348.
- Larry W. Swanson and Gorica D. Petrovich (1998) What is the amygdala? *Trends Neurosci*, **21**, 323–331.
- Lázaro-Muñoz, G., LeDoux, J.E., & Cain, C.K. (2010) Sidman instrumental avoidance initially depends on lateral and basal amygdala and is constrained by central amygdala-mediated Pavlovian processes. *Biol. Psychiatry*, **67**, 1120–1127.
- LeDoux, J. (2000) Emotion circuits in the brain. *Annu. Rev. Neurosci.*, **23**, 155–184.
- Li, H., Li, S., Yu, Z., Shelbourne, P., & Li, X. (2001) Huntingtin Aggregate-Associated Axonal Degeneration is an Early Pathological Event in Huntington's Disease Mice. *J. Neurosci.*, **21**, 8473–8481.
- Litvan, I., Paulsen, J.S., Mega, M.S., & Cummings, J.L. (1998) Neuropsychiatric assessment of patients with hyperkinetic and hypokinetic movement disorders. *Arch. Neurol.*, **55**, 1313–1319.
- Manfré, G., Doyère, V., Bossi, S., Riess, O., Phuc, H., & El Massioui, N. (n.d.) Impulsivity trait in the early symptomatic BACHD transgenic rat model of Huntington Disease. *Press.*

- McDonald, a J. (1982) Cytoarchitecture of the central amygdaloid nucleus of the rat. *J. Comp. Neurol.*, **208**, 401–418.
- Milad, M.R. & Quirk, G.J. (2002) Neurons in medial prefrontal cortex signal memory for fear extinction. *Nature*, **420**, 70–74.
- Nagy, J., Zambo, K., & Decsi, L. (1979) Anti-anxiety action of diazepam after intra- amygdaloid application in the rat. *Neuropharmacology*, **18**, 573–576.
- Olsen, W. & Tobin, J. (1990) Molecular biology of GABAA receptor. *FASEB J.*, **4**, 1469–1480.
- Osmand, A.P., Berthelie, V., & Wetzel, R. (2006) Imaging polyglutamine deposits in brain tissue. *Methods Enzymol.*, **412**, 106–122.
- Paradiso, S., Turner, B.M., Paulsen, J.S., Jorge, R., Ponto, L.L.B., & Robinson, R.G. (2008) Neural bases of dysphoria in early Huntington’s disease. *Psychiatry Res.*, **162**, 73–87.
- Paxinos, G. & Watson, C. (1986) The rat brain in stereotaxic coordinates. *2d ed. Orlando Acad.*.
- Rescorla, R.A. & Solomon, R.L. (1967) Two-Process Learning Theory: Relationships Between Pavlovian Conditioning And Instrumental Learning. *Psychol. Rev.*, **74**, 151–182.
- Richards, P., Didszun, C., Campesan, S., Simpson, a, Horley, B., Young, K.W., Glynn, P., Cain, K., Kyriacou, C.P., Giorgini, F., & Nicotera, P. (2011) Dendritic spine loss and neurodegeneration is rescued by Rab11 in models of Huntington’s disease. *Cell Death Differ.*, **18**, 191–200.
- Robotham, L., Sauter, D. a, Bachoud-Lévi, A.-C., & Trinkler, I. (2011) The impairment of emotion recognition in Huntington’s disease extends to positive emotions. *Cortex*, **47**, 880–884.
- Rosas, H.D., Koroshetz, W.J., Chen, Y.I., Skeuse, C., Vangel, M., Cudkowicz, M.E., Caplan, K., Marek, K., Seidman, L.J., Makris, N., Jenkins, B.G., & Goldstein, J.M. (2003) Evidence for more widespread cerebral pathology in early HD: an MRI-based morphometric analysis. *Neurology*, **60**, 1615–1620.
- Rouanet, H. (1990) Statistique en sciences humaines: analyse inductive des données . *Dunod*.
- Rudenko, O., Tkach, V., Berezin, V., & Bock, E. (2009) Detection of early behavioral markers of Huntington’s disease in R6/2 mice employing an automated social home cage. *Behav. Brain Res.*, **203**, 188–199.
- Sanders, S.K. & Shekhar, A. (1995) Regulation of Anxiety by GABA * Receptors in the Rat Amygdala. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **52**, 701–706.
- Sprengelmeyer, R., Young, A.W., Calder, A.J., Karnat, A., Lange, H., Homberg, V., Perrett, D.I., & Rowland, D. (1996) Perception of faces and emotions in Huntington ’ s disease. *Brain*, **i**, 1647–1665.
- Szebenyi, G., Morfini, G. a, Babcock, A., Gould, M., Selkoe, K., Stenoi, D.L., Young, M., Faber, P.W., MacDonald, M.E., McPhaul, M.J., & Brady, S.T. (2003) Neuropathogenic forms of huntingtin and androgen receptor inhibit fast axonal transport. *Neuron*, **40**, 41–52.
- Thieben, M.J., Duggins, A.J., Good, C.D., Gomes, L., Mahant, N., Richards, F., Mccusker, E., & Frackowiak, R.S.J. (2002) The distribution of structural neuropathology in pre-clinical

Huntington ' s disease. *Brain*, **4**, 1815–1828.

- Trushina, E., Dyer, R.B., Ii, J.D.B., Eide, L., Tran, D.D., Vrieze, B.T., Mcpherson, P.S., Bhaskar, S., Houten, B. Van, Zeitlin, S., Aebersold, R., Hayden, M., Joseph, E., Seeberg, E., Dragatsis, I., Doyle, K., Chacko, C., McMurray, C.T., Ure, D., Legendre-guillemin, V., Mandavilli, B.S., Mcniven, M., Parisi, J.E., & Bender, A. (2004) Mutant Huntingtin Impairs Axonal Trafficking in Mammalian Neurons In Vivo and In Vitro. *Molecular Cell. Biol.*, **24**.
- Ventura-Silva, A.P., Melo, A., Ferreira, A.C., Carvalho, M.M., Campos, F.L., Sousa, N., & Pêgo, J.M. (2013) Excitotoxic lesions in the central nucleus of the amygdala attenuate stress-induced anxiety behavior. *Front. Behav. Neurosci.*, **7**, 32.
- Wang, C.-E., Tydlacka, S., Orr, A.L., Yang, S.-H., Graham, R.K., Hayden, M.R., Li, S., Chan, A.W.S., & Li, X.-J. (2008) Accumulation of N-terminal mutant huntingtin in mouse and monkey models implicated as a pathogenic mechanism in Huntington's disease. *Hum. Mol. Genet.*, **17**, 2738–2751.
- Yu-Taeger, L., Petrasch-Parwez, E., Osmand, A.P., Redensek, A., Metzger, S., Clemens, L.E., Park, L., Howland, D., Calaminus, C., Gu, X., Pichler, B., Yang, X.W., Riess, O., & Nguyen, H.P. (2012) A Novel BACHD Transgenic Rat Exhibits Characteristic Neuropathological Features of Huntington Disease. *J. Neurosci.*, **32**, 15426–15438.

DISCUSSION GÉNÉRALE

DISCUSSION GÉNÉRALE

L'objectif initial de ce travail de thèse était d'étudier les bases neurobiologiques à l'origine des troubles neuropsychiatriques de la MH. À un stade présymptomatique, beaucoup de patients présentent un comportement émotionnel inadéquat et qui diffère de leurs réactions habituelles. C'est un des premiers troubles rapportés par les proches des malades. Couramment, ces changements de personnalité se traduisent par un caractère impulsif et hyper-anxieux, mais aussi par une irritabilité, c'est-à-dire une réaction exagérée face à une situation dérangeante ou contrariante, pouvant aller jusqu'à des excès de colère et même de l'agressivité.

Nous sommes alors partis de l'hypothèse que l'amygdale était au centre du réseau sous-tendant ces symptômes. En effet, il est connu que cette structure est nécessaire aux processus émotionnels et qu'elle est souvent altérée dans des pathologies psychiatriques (trouble de la personnalité limitée (TPL), schizophrénie, autisme, troubles anxieux ...). D'autre part, il a été observé que le volume de l'amygdale est diminué aussi bien chez les patients que chez les modèles animaux de MH. Afin d'étudier quel serait le rôle de l'amygdale dans les symptômes émotionnels de la MH, il nous fallait tout d'abord un modèle exprimant fidèlement les symptômes retrouvés chez l'Homme et facilement utilisable pour nos recherches. Notre collaboration avec l'équipe allemande dirigée par Huu Phuc Nguyen nous a permis d'étudier un tout nouveau modèle de rats transgéniques qu'ils ont créé, les BACHD. Notre première étude a donc consisté à découvrir le potentiel qu'offre ce modèle dans l'étude de la MH.

Nos résultats ont permis de mettre en évidence plusieurs troubles d'ordre émotionnel chez ce modèle, à un stade précoce de la maladie. Dans un premier temps, on dénote chez les rats BACHD un caractère anxieux basal plus élevé que celui des rats normaux, détectable dès le stade présymptomatique et qui s'accroît avec la progression de la maladie. Outre cette hyper-anxiété de trait, les rats BACHD manifestent également des comportements exagérés et inappropriés dans des situations dérangeantes ou conflictuelles (hyper-(ré)activité face à la nouveauté, prise de risque et désinhibition). Ces troubles sont donc cohérents avec ceux présents chez le patient MH et font des rats BACHD un bon modèle pour l'étude des symptômes émotionnels dès le stade présymptomatique de la MH.

Le point commun de ces tests est l'implication de l'amygdale ou, plus précisément, le fait que son niveau d'activation est directement lié au niveau d'anxiété des animaux testés. Or, les rats BACHD présentent un profil hyper-anxieux comparé aux rats normaux. Ces résultats nous

ont alors menés à l'hypothèse d'une hyper-activité cellulaire au niveau de l'amygdale de ces animaux transgéniques. D'autre part, dans les tests de conditionnement pavloviens, les rats manifestent, une fois encore, un profil comportemental différent de celui des rats WT à un stade présymptomatique. Leurs comportements de peur (freezing), ainsi que celui d'orientation à un SC (sign-tracking) sont altérés, témoignant d'une perturbation spécifique au niveau du CeA. Ainsi, plus qu'une hyper-activité amygdalienne, ces données nous suggèrent une altération du CeA.

La comparaison des patterns d'agrégats des deux noyaux principaux de l'amygdale, le BLA et le CeA, a permis de confirmer l'atteinte spécifique du CeA chez les rats BACHD. Ces agrégats ont été retrouvés en plus grand nombre et avec une taille plus importante au niveau du CeA par rapport au BLA à partir de l'âge de 3 mois. De même, l'effet différentiel qu'induit la modulation d'activité du CeA chez les rats BACHD par rapport aux rats WT indique une altération fonctionnelle de cette structure entraînant un comportement émotionnel différent de celui d'animaux normaux.

À partir de toutes ces données, nous avons supposé que l'altération fonctionnelle du CeA serait due à une hyper-activité (possiblement compensatrice) spécifique du CeA. En effet, comme le suggère avant nous l'étude de Faure (Faure *et al.*, 2011), il est possible qu'avec l'altération du CeA, un processus compensatoire se mette en place et entraîne une hyper-activation des cellules du CeA restantes. Une analyse de l'activité cellulaire des différents noyaux amygdaliens (BLA, CeL et CeM) est alors réalisée et indique que c'est au niveau du CeM des rats BACHD qu'une hyper-activité cellulaire est visible en réponse à un stimulus aversif.

Le dernier point important qu'offrent les résultats de ces travaux de thèse se situe au niveau de la chronologie des atteintes de l'amygdale. En effet, un des challenges de la recherche concernant la MH est de circonscrire avec précision la période à laquelle un potentiel traitement serait efficace pour contrer la progression de la maladie. Au niveau de l'amygdale, nous avons déterminé que l'atteinte via les agrégats n'était pas visible à 3 mois spécifiquement dans le CeA alors qu'elle l'était à 6 mois chez les rats BACHD. Au niveau comportemental, les altérations sont visibles dès 4 mois et s'aggravent au fur et à mesure de la progression de la maladie. Il semble donc que ce soit aux alentours de 4 mois qu'ait lieu la période critique où les atteintes cellulaires et/ou fonctionnelles des réseaux neuronaux impliquant le CeA sont telles que des comportements anormaux s'expriment.

Pris dans leur ensemble, nos données montrent que l'amygdale est dysfonctionnelle chez les rats BACHD, suggérant que cette dysfonction pourrait être à la base des symptômes émotionnels de ces animaux et plus largement des troubles émotionnels chez les patients MH.

Plus précisément, l'hyper-activité cellulaire précoce du CeM chez les rats BACHD serait une des origines du phénotype émotionnel altéré de ces animaux.

Cependant, ces résultats engendrent de nouvelles questions. Par exemple, deux hypothèses sont possibles quant aux origines de l'hyper-activité cellulaire du CeM :

- un défaut du contrôle inhibiteur du CeA, via un déséquilibre entre les parties médiane (CeM) et latérale (CeL), provoquerait une augmentation d'activité du CeM et donc une augmentation d'activité dans les structures cibles impliquées dans la peur et l'anxiété ;

- et/ou une réduction des inputs glutamatergiques sur le CeL issus du cortex préfrontal pourrait également provoquer une augmentation d'activité du CeM.

Pour tenter de clarifier ces postulats, des études immunohistochimiques plus poussées devaient être réalisées notamment sur ce système GABAergique. À savoir : quelle est la quantité de GABA libérée ainsi que le nombre de récepteurs présents dans les différentes parties du CeA ? Par manque de temps, nous n'avons malheureusement pas pu réaliser ces expériences.

D'autre part, nous avons montré ici que les rats BACHD présentent une symptomatologie proche de celle des patients MH. Nos résultats, ainsi que tous ceux ayant été obtenus à partir de ces rats BACHD en font un modèle de choix pour l'étude de la MH. De plus, ce modèle possède un autre avantage indéniable pour l'étude des bases neurobiologiques de la maladie : son système Cre-Lox. En effet, l'expression de Cre recombinase, via l'injection d'un lentivirus, a pour effet d'exciser l'expansion polyglutaminique du gène HTT et donc de stopper la transcription de la protéine mhtt afin d'empêcher la formation de nouveaux sites d'agrégation dans n'importe quelle région et à n'importe quel stade de la maladie.

Grâce à cette construction, la dernière étape de ma thèse devait être de déterminer précisément l'impact de l'expression de la protéine mhtt dans l'amygdale des rats BACHD sur leur phénotype émotionnel. Pour cela, une inactivation de la protéine mhtt par l'injection d'un vecteur lentiviral dans l'amygdale (CeA ou BLA) contenant Cre recombinase était prévue chez des rats présymptomatiques n'ayant pas ou peu d'agrégats dans l'amygdale (vers 1 mois). Une fois les rats adultes, nous leur aurions fait passer la batterie de tests comportementaux mis au point précédemment. Le but aurait été d'observer si l'arrêt de la production de mhtt au niveau du CeA prévient les symptômes émotionnels de la MH. Pour aller plus loin, il serait nécessaire de vérifier au niveau cellulaire que l'injection du lentivirus entraîne effectivement un arrêt de la progression du nombre d'agrégats spécifiquement dans la région injectée et peut-être constater une réduction de ce nombre d'agrégats (élimination par les cellules phagocytaires) puis un retour à la normale de la fonction des structures visées. Dans ce but, les injections auraient

également été réalisées chez des rats plus âgés ayant déjà manifestés des troubles émotionnels afin de voir si l'inactivation de la protéine mhrt dans le CeA suffit à stopper la progression de ces troubles et même, permet un retour à un phénotype « normal ». Par manque de temps, ces expériences n'ont pas pu être réalisées au cours de ma thèse, mais elles feront certainement l'objet d'une prochaine étude.

BIBLIOGRAPHIE

BIBLIOGRAPHIE

- Abada, Y.K., Schreiber, R., & Ellenbroek, B. (2012) Motor, emotional and cognitive deficits in adult BACHD mice: a model for Huntington's disease. *Behav. Brain Res.*, **238**, 243–251.
- Abada, Y.-S.K., Nguyen, H.P., Ellenbroek, B., & Schreiber, R. (2013) Reversal Learning and Associative Memory Impairments in a BACHD Rat Model for Huntington Disease. *PLoS One*, **8**, e71633.
- Abada, Y.-S.K., Nguyen, H.P., Schreiber, R., & Ellenbroek, B. (2013) Assessment of Motor Function, Sensory Motor Gating and Recognition Memory in a Novel BACHD Transgenic Rat Model for Huntington Disease. *PLoS One*, **8**, e68584.
- Acheson, A., Conover, J.C., Fandl, J.P., DeChiara, T.M., Russell, M., Thadani, A., Squinto, S.P., Yancopoulos, G.D., & Lindsay, R.M. (1995) A BDNF autocrine loop in adult sensory neurons prevents cell death. *Nature*, **374**, 450–453.
- Adolphs, R. (2002) Neural systems for recognizing emotion. *Curr. Opin. Neurobiol.*, **12**, 169–177.
- Albin, R., Reiner, A., Anderson, K.D., Dure, L.S., Handelin, B., Balfour, R., Whetsell, W.O., Penney, J.B., & Young, a B. (1992) Preferential loss of striato-external pallidal projection neurons in presymptomatic Huntington's disease. *Ann. Neurol.*, **31**, 425–430.
- Albin, R., Young, A., & Penney, J. (1989) The functional anatomy of basal ganglia disorders. *Trends Neurosci.*, **12**, 366–375.
- Alexander, G.E. & Crutcher, M.D. (1990) Functional architecture of basal ganglia circuits: neural substrates of parallel processing. *Trends Neurosci.*, **13**, 266–271.
- Altar, C. a, Cai, N., Bliven, T., Juhasz, M., Conner, J.M., Acheson, a L., Lindsay, R.M., & Wiegand, S.J. (1997) Anterograde transport of brain-derived neurotrophic factor and its role in the brain. *Nature*, **389**, 856–860.
- Aron, A.R., Sahakian, B.J., & Robbins, T.W. (2003) Distractibility during selection-for-action: Differential deficits in Huntington's disease and following frontal lobe damage. *Neuropsychologia*, **41**, 1137–1147.
- Augood, S.J., Faull, R.L., Love, D.R., & Emson, P.C. (1996) Reduction in enkephalin and substance P messenger RNA in the striatum of early grade Huntington's disease: a detailed cellular in situ hybridization study. *Neuroscience*, **72**, 1023–1036.
- Aylward, E.H., Li, Q., Stine, O.C., Ranen, N., Sherr, M., Barta, P.E., Bylsma, F.W., Pearlson, G.D., & Ross, C.A. (1997) Longitudinal change in basal ganglia volume in patients with Huntington's disease. *Neurology*, **48**, 394–399.
- Ball, S.A. (2005) Personality traits, problems, and disorders: Clinical applications to substance use disorders. *J. Res. Pers.*, **39**, 84–102.
- Baquet, Z.C., Gorski, J. a, & Jones, K.R. (2004) Early striatal dendrite deficits followed by neuron

loss with advanced age in the absence of anterograde cortical brain-derived neurotrophic factor. *J. Neurosci.*, **24**, 4250–4258.

- Barnett, S.A. (1963) A study in behaviour: principles of ethology and behavioural physiology, displayed mainly in the rat. *London : Methuen*, 1963.
- Beal, M.F., Ferrante, R.J., Swartz, K.J., & Kowall, N.W. (1991) Chronic quinolinic acid lesions in rats closely resemble Huntington's disease. *J. Neurosci.*, **11**, 1649–1659.
- Bechara, A., Tranel, D., Damasio, H., Adolphs, R., Rockland, C., & Damasio, A.R. (1995) Double dissociation of conditioning and declarative knowledge relative to the amygdala and hippocampus in humans. *Science (80-)*, **269**, 1115–1118.
- Becher, M.W., Kotzok, J.A., Sharp, A.H., Davies, S.W., Bates, G.P., Price, D.L., & Ross, C.A. (1998) Intranuclear Neuronal Inclusions in Huntington ' s Disease and Dentatorubral and Pallidolusian Atrophy : Correlation between the Density of Inclusions and IT15 CAG Triplet Repeat Length. *Neurobiol. Dis.*, **397**, 387–397.
- Belzung, C. & Griebel, G. (2001) Measuring normal and pathological anxiety-like behaviour in mice: a review. *Behav. Brain Res.*, **125**, 141–149.
- Bienkowski, M.S. & Rinaman, L. (2013) Common and distinct neural inputs to the medial central nucleus of the amygdala and anterior ventrolateral bed nucleus of stria terminalis in rats. *Brain Struct. Funct.*, **218**, 187–208.
- Blanchard, R.J. & Blanchard, D.C. (1969) Passive and active reactions to fear-eliciting stimuli. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, **68**, 129–135.
- Bode, F.J., Stephan, M., Suhling, H., Pabst, R., Straub, R.H., Raber, K.A., Bonin, M., Nguyen, H.P., Riess, O., Bauer, A., Sjöberg, C., Petersén, A., & von Hörsten, S. (2008) Sex differences in a transgenic rat model of Huntington's disease: decreased 17beta-estradiol levels correlate with reduced numbers of DARPP32+ neurons in males. *Hum. Mol. Genet.*, **17**, 2595–2609.
- Bolivar, V.J., Manley, K., & Messer, A. (2003) Exploratory activity and fear conditioning abnormalities develop early in R6/2 Huntington's disease transgenic mice. *Behav. Neurosci.*, **117**, 1233–1242.
- Bouteille, E.M. (1810) *Traité de la chorée ou danse de Saint-Guy* 78–146.
- Bowery, N.G. & Enna, S.J. (2000) gamma-aminobutyric acid(B) receptors: first of the functional metabotropic heterodimers. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **292**, 2–7.
- Brandt, J. (1991) Cognitive impairments in Huntington's disease: insights into the neuropsychology of the striatum. *Handb. Neuropsychol.*, **5**, 241–264.
- Brinkman, R.R., Mezei, M.M., Theilmann, J., Almqvist, E., & Hayden, M.R. (1997) The likelihood of being affected with Huntington disease by a particular age, for a specific CAG size. *Am. J. Hum. Genet.*, **60**, 1202–1210.
- Brown, S. & Schafer, E. (1888) An Investigation into the Functions of the Occipital and Temporal Lobes of the Monkey's Brain. *Philos. Trans. R. Soc. London*, **179**, 303–327.

- Cabeza, R. & Nyberg, L. (2000) Neural bases of learning and memory: functional neuroimaging evidence. *Curr. Opin. Neurol.*, **13**, 415–421.
- Cancel, G., Duyckaerts, C., Holmberg, M., Zander, C., Yvert, G., Lebre, a S., Ruberg, M., Faucheux, B., Agid, Y., Hirsch, E., & Brice, a (2000) Distribution of ataxin-7 in normal human brain and retina. *Brain*, **123 Pt 12**, 2519–2530.
- Cassell, M.D., Gray, T.S., & Kiss, J.Z. (1986) Neuronal architecture in the rat central nucleus of the amygdala: a cytological, hodological, and immunocytochemical study. *J. Comp. Neurol.*, **246**, 478–499.
- Cattaneo, E., Rigamonti, D., Goffredo, D., Zuccato, C., & Sipione, S. (2001) Loss of normal huntingtin function : new developments in Huntington ' s disease research. *Trends Neurosci.*, **24**, 182–188.
- Caviston, J.P., Ross, J.L., Antony, S.M., Tokito, M., & Holzbaur, E.L.F. (2007) Huntingtin facilitates dynein/dynactin-mediated vesicle transport. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **104**, 10045–10050.
- Chareyron, L.J., Banta Lavenex, P., Amaral, D.G., & Lavenex, P. (2011) Stereological analysis of the rat and monkey amygdala. *J. Comp. Neurol.*, **519**, 3218–3239.
- Choi, J.S., Cain, C.K., & LeDoux, J.E. (2010) The role of amygdala nuclei in the expression of auditory signaled two-way active avoidance in rats. *Learn. Mem.*, **17**, 139–147.
- Chu, D.C.M., Albin, R.L., Young, a B., Penney, J.B., Arbor, A., & Gaba, A.-H. (1990) Distribution and kinetics of GABAB binding sites in rat central nervous system: A quantitative autoradiographic study. *Neuroscience*, **34**, 341–357.
- Ciamei, A. & Morton, A.J. (2008) Rigidity in social and emotional memory in the R6/2 mouse model of Huntington's disease. *Neurobiol. Learn. Mem.*, **89**, 533–544.
- Ciarmiello, A., Giovacchini, G., Orobello, S., Bruselli, L., Elifani, F., & Squitieri, F. (2012) 18F-FDG PET uptake in the pre-Huntington disease caudate affects the time-to-onset independently of CAG expansion size. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*, **39**, 1030–1036.
- Cicchetti, F., Prensa, L., Wu, Y., & Parent, A. (2000) Chemical anatomy of striatal interneurons in normal individuals and in patients with Huntington's disease. *Brain Res. Rev.*, **34**, 80–101.
- Ciocchi, S., Herry, C., Grenier, F., Wolff, S.B.E., Letzkus, J.J., Vlachos, I., Ehrlich, I., Sprengel, R., Deisseroth, K., Stadler, M.B., Müller, C., & Lüthi, A. (2010) Encoding of conditioned fear in central amygdala inhibitory circuits. *Nature*, **468**, 277–282.
- Clinton, S.M., Stead, J.D.H., Miller, S., Stanley J. Watson, M., & Akil, H. (2011) Developmental underpinnings of differences in rodent novelty- seeking an emotional reactivity **34**, 994–1005.
- Cole, B., Hillmann, M., Seidelmann, D., Klewer, M., & Jones, G. (1995) Effects of benzodiazepine receptor partial inverse agonists in the elevated plus maze test of anxiety in the rat. *Psychopharmacology (Berl.)*, **121**, 118–126.
- Costall, B., Kelly, M.E., Naylor, R.J., Onaivi, E.S., & Tyers, M.B. (1989) Neuroanatomical sites of action of 5-HT₃ receptor agonist and antagonists for alteration of aversive behaviour in the mouse. *Br. J. Pharmacol.*, **96**, 325–332.

- Craufurd, D., Thompson, J.C., & Snowden, J.S. (2001) Behavioral changes in Huntington Disease. *Neuropsychiatry. Neuropsychol. Behav. Neurol.*, **14**, 219–226.
- Cudkowicz, M. & Kowall, N.W. (1990) Degeneration of pyramidal projection neurons in Huntingtons-disease cortex. *Ann. Neurol.*, **27**, 200–204.
- Cunningham, W.A. & Kirkland, T. (2014) The joyful, yet balanced, amygdala: Moderated responses to positive but not negative stimuli in trait happiness. *Soc. Cogn. Affect. Neurosci.*, **9**, 760–766.
- David, D.J., Samuels, B.A., Rainer, Q., Wang, J.-W., Marsteller, D., Mendez, I., Drew, M., Craig, D.A., Guiard, B.P., Guilloux, J.-P., Artymyshyn, R.P., Gardier, A.M., Gerald, C., Antonijevic, I.A., Leonardo, E.D., & Hen, R. (2009) Neurogenesis-Dependent and -Independent Effects of Fluoxetine in an Animal Model of Anxiety/Depression. *Neuron*, **62**, 479–493.
- Davies, S.W., Turmaine, M., Cozens, B. a., DiFiglia, M., Sharp, A.H., Ross, C. a., Scherzinger, E., Wanker, E.E., Mangiarini, L., & Bates, G.P. (1997) Formation of neuronal intranuclear inclusions underlies the neurological dysfunction in mice transgenic for the HD mutation. *Cell*, **90**, 537–548.
- Davis, M. (1992) The role of the amygdala in fear and anxiety. *Annu. Rev. Neurosci.*, **15**, 353–375.
- Davis, M. (1997) Neurobiology of fear responses : the role of the amygdala . *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*, **9**, 382–402.
- Dawe, S., Gullo, M.J., & Loxton, N.J. (2004) Reward drive and rash impulsiveness as dimensions of impulsivity: Implications for substance misuse. *Addict. Behav.*, **29**, 1389–1405.
- De la Monte, S., Vonsattel, J., & Richardson, E. (1988) Morphometric Demonstration of Atrophic Changes in the Cerebral Cortex , White Matter , and Neostriatum in Huntington ' s Disease. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, **47**, 516–525.
- De Rooij, K.E., De Koning Gans, P. a, Skraastad, M.I., Belfroid, R.D., Vegter-Van Der Vlis, M., Roos, R. a, Bakker, E., Van Ommen, G.J., Den Dunnen, J.T., & Losekoot, M. (1993) Dynamic mutation in Dutch Huntington's disease patients: increased paternal repeat instability extending to within the normal size range. *J. Med. Genet.*, **30**, 996–1002.
- Delacour, J. (1980) Conditioned Modifications of Arousal and Unit-Activity in the Rat Hippocampus. *Exp. Brain Res.*, **38**, 95–101.
- DeLong, M.R. (1990) Primate models of movement disorders of basal ganglia origin. *Trends Neurosci.*, **13**, 281–285.
- DeLorey, T.M. & Olsen, R.W. (1992) γ -Aminobutyric Acid-A Receptor Structure and Function*. *J. Biol. Chem.*, **267**, 16747–16750.
- Deng, Y.P., Albin, R.L., Penney, J.B., Young, a. B., Anderson, K.D., & Reiner, a. (2004) Differential loss of striatal projection systems in Huntington's disease: A quantitative immunohistochemical study. *J. Chem. Neuroanat.*, **27**, 143–164.
- Di Maio, L., Squitieri, F., Napolitano, G., Campanella, G., Trofatter, J.A., & Conneally, P.M. (1993) Suicide risk in Huntington ' s disease. *J. Med. Genet.*, **30**, 293–295.

- DiFiglia, M. (2002) Huntingtin fragments that aggregate go their separate ways. *Mol. Cell*, **10**, 224–225.
- DiFiglia, M., Sapp, E., Chase, K.O., Davies, S.W., Bates, G.P., Vonsattel, J.P., & Aronin, N. (1997) Aggregation of huntingtin in neuronal intranuclear inclusions and dystrophic neurites in brain. *Science (80-)*, **277**, 1990–1993.
- Dogan, I., Saß, C., Mirzazade, S., Kleiman, A., Werner, C.J., Pohl, A., Schiefer, J., Binkofski, F., Schulz, J.B., Shah, N.J., & Reetz, K. (2014) Neural correlates of impaired emotion processing in manifest Huntington’s disease. *Soc. Cogn. Affect. Neurosci.*, **9**, 671–680.
- Dogan, I., Saß, C., Mirzazade, S., Kleiman, A., Werner, C.J., Schulz, B., Shah, N.J., Reetz, K., Pohl, A., Schiefer, J., & Binkofski, F. (2014) Neural correlates of impaired emotion processing in manifest Huntington ’ s disease.
- Douaud, G., Gaura, V., Ribeiro, M.-J., Lethimonnier, F., Maroy, R., Verny, C., Krystkowiak, P., Damier, P., Bachoud-Levi, a-C., Hantraye, P., & Remy, P. (2006) Distribution of grey matter atrophy in Huntington’s disease patients: a combined ROI-based and voxel-based morphometric study. *Neuroimage*, **32**, 1562–1575.
- Dragatsis, I., Levine, M.S., & Zeitlin, S. (2000) Inactivation of Hdh in the brain and testis results in progressive neurodegeneration and sterility in mice. *Nat. Genet.*, **26**, 300–306.
- Duclot, F., Hollis, F., Darcy, M.J., & Kabbaj, M. (2011) Individual Differences in Novelty-Seeking Behavior in Rats as a Model for Psychosocial Stress-Related Mood Disorders. *Physiol. Behav.*, **104**, 296–305.
- Dunghlison, R. (1842) *The Practice of Medicine : A Treatise on Special Pathology and Therapeutics. Lea Blanchard, 2.*
- Dunghlison, R. (1848) *The Practice of Medicine : A Treatise on Special Pathology and Therapeutics. Lea Blanchard, 1.*
- Duvarci, S. & Pare, D. (2014) Amygdala microcircuits controlling learned fear. *Neuron*, **82**, 966–980.
- Duyao, M.P., Auerbach, A.B., Ryan, A., Persichetti, F., Barnes, G.T., McNeil, S.M., Ge, P., Vonsattel, J.-P., Gusella, J.F., Joyner, A.L., & MacDonald, M.E. (1995) Inactivation of the mouse Huntington ’ s disease gene homolog Hdh. *Science (80-)*, **269**, 407–410.
- Ehrlich, I., Humeau, Y., Grenier, F., Ciochi, S., Herry, C., & Lüthi, A. (2009) Amygdala inhibitory circuits and the control of fear memory. *Neuron*, **62**, 757–771.
- Einum, D.D., Townsend, J.J., Ptáček, L.J., & Fu, Y.H. (2001) Ataxin-7 expression analysis in controls and spinocerebellar ataxia type 7 patients. *Neurogenetics*, **3**, 83–90.
- El Massioui, N. & Van Golf Racht-Delatour, B. (1997) Contrasting effects of central nucleus of the amygdala and dorsal striatum lesions on active avoidance learning and its contextual modification. *Neurosci. Res. Commun.*, **21**, 103–111.
- Enz, R. & Cutting, G.R. (1998) Molecular composition of GABA C receptors. *Vis. Res.* **38** 1431–1441, **38**, 1431–1441.

- Etkin, A. (2010) *Functional Neuroanatomy of Anxiety: A Neural Circuit Perspective*, Current topics in behavioral neurosciences.
- Everitt, B.J., Parkinson, J. a., Olmstead, M.C., Arroyo, M., Robledo, P., & Robbins, T.W. (1999) Associative processes in addiction and reward. The role of amygdala-ventral striatal subsystems. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **877**, 412–438.
- Eysenck, S.B. & Eysenck, H.J. (1977) The place of impulsiveness in a dimensional system of personality description. *Br. J. Soc. Clin. Psychol.*, **16**, 57–68.
- Faull, R.L. & Mehler, W.R. (1978) The cells of origin of nigrotectal, nigrothalamic and nigrostriatal projections in the rat. *Neuroscience*, **3**, 989–1002.
- Faure, a, Höhn, S., Von Hörsten, S., Delatour, B., Raber, K., Le Blanc, P., Desvignes, N., Doyère, V., & El Massioui, N. (2011) Altered emotional and motivational processing in the transgenic rat model for Huntington's disease. *Neurobiol. Learn. Mem.*, **95**, 92–101.
- File, S.E., Mahal, A., Mangiarini, L., & Bates, G.P. (1998) Striking changes in anxiety in Huntington's disease transgenic mice. *Brain Res.*, **805**, 234–240.
- Flagel, S.B., Robinson, T.E., Clark, J.J., Clinton, S.M., Watson, S.J., Seeman, P., Phillips, P.E.M., & Akil, H. (2010) An Animal Model of Genetic Vulnerability to Behavioral Disinhibition and Responsiveness to Reward-Related Cues: Implications for Addiction. *Neuropsychopharmacology*, **35**, 388–400.
- Folstein, S., Abbott, M.H., Chase, G. a, Jensen, B. a, & Folstein, M.F. (1983) The association of affective disorder with Huntington's disease in a case series and in families. *Psychol. Med.*, **13**, 537–542.
- Francois, C., Grabli, D., McCairn, K., Jan, C., Karachi, C., Hirsch, E.-C., Féger, J., & Tremblay, L. (2004) Behavioural disorders induced by external globus pallidus dysfunction in primates II. Anatomical study. *Brain*, **127**, 2055–2070.
- Gauthier, L.R., Charrin, B.C., Borrell-Pagès, M., Dompierre, J.P., Rangone, H., Cordelières, F.P., De Mey, J., MacDonald, M.E., Leßmann, V., Humbert, S., & Saudou, F. (2004) Huntingtin controls neurotrophic support and survival of neurons by enhancing BDNF vesicular transport along microtubules. *Cell*, **118**, 127–138.
- Geyer, M. a., Krebs-Thomson, K., Braff, D.L., & Swerdlow, N.R. (2001) *Pharmacological Studies of Prepulse Inhibition Models of Sensorimotor Gating Deficits in Schizophrenia: A Decade in Review*, Psychopharmacology.
- Gilliam, T.C., Tanzi, R.E., Haines, J.L., Bonner, T.I., Faryniarz, a G., Hobbs, W.J., MacDonald, M.E., Cheng, S. V, Folstein, S.E., & Conneally, P.M. (1987) Localization of the Huntington's disease gene to a small segment of chromosome 4 flanked by D4S10 and the telomere. *Cell*, **50**, 565–571.
- Ginovart, N., Lundin, A., Farde, L., Halldin, C., Bäckman, L., Swahn, C.G., Pauli, S., & Sedvall, G. (1997) PET study of the pre- and post-synaptic dopaminergic markers for the neurodegenerative process in Huntington's disease. *Brain*, **120**, 503–514.

- Glass, M., Dragunow, M., & Faull, R.L.M. (2000) The pattern of neurodegeneration in Huntington's disease: A comparative study of cannabinoid, dopamine, adenosine and GABA(A) receptor alterations in the human basal ganglia in Huntington's disease. *Neuroscience*, **97**, 505–519.
- Goldman, A.I. & Sripada, C.S. (2005) Simulationist models of face-based emotion recognition. *Cognition*, **94**, 193–213.
- Gomez-Tortosa, E., MacDonald, M.E., Friend, J.C., Taylor, S. a M., Weiler, L.J., Adrienne Cupples, L., Srinidhi, J., Gusella, J.F., Bird, E.D., Vonsattel, J.P., & Myers, R.H. (2001) Quantitative neuropathological changes in presymptomatic Huntington's disease. *Ann. Neurol.*, **49**, 29–34.
- Grabli, D., McCairn, K., Hirsch, E.C., Agid, Y., Féger, J., François, C., & Tremblay, L. (2004) Behavioural disorders induced by external globus pallidus dysfunction in primates: I. Behavioural study. *Brain*, **127**, 2039–2054.
- Graham, F.K. (1975) The more or less startling effects of weak prestimulation. *Psychophysiology*, **12**, 238–248.
- Grandmougin, T., Bourdet, C., & Gurruchaga, J.M. (1997) De la danse de Saint Guy à la chorée de Huntington: Rappels sur l'émergence d'un concept médical. *Medecine/Sciences*, **13**, 850–854.
- Gray, M., Shirasaki, D.I., Cepeda, C., André, V.M., Wilburn, B., Lu, X.-H., Tao, J., Yamazaki, I., Li, S.-H., Sun, Y.E., Li, X.-J., Levine, M.S., & Yang, X.W. (2008) Full-length human mutant huntingtin with a stable polyglutamine repeat can elicit progressive and selective neuropathogenesis in BACHD mice. *J. Neurosci.*, **28**, 6182–6195.
- Gross, C. & Hen, R. (2004) The developmental origins of anxiety. *Nat. Rev. Neurosci.*, **5**, 545–552.
- Guo, Z., Rudow, G., Pletnikova, O., Codispoti, K.-E., Orr, B.A., Crain, B.J., Duan, W., Margolis, R.L., Rosenblatt, A., Ross, C.A., & Troncoso, J.C. (2012) Striatal neuronal loss correlates with clinical motor impairment in Huntington's disease. *Mov. Disord.*, **27**, 1379–1386.
- Gusella, J.F. & MacDonald, M.E. (2000) Molecular genetics: unmasking polyglutamine triggers in neurodegenerative disease. *Nat. Rev. Neurosci.*, **1**, 109–115.
- Gusella, J.F., Tanzi, R.E., Bader, P.I., Phelan, M.C., Stevenson, R., Hayden, M.R., Hofman, K.J., Faryniarz, a G., & Gibbons, K. (1985) Deletion of Huntington's disease-linked G8 (D4S10) locus in Wolf-Hirschhorn syndrome. *Nature*, **318**, 75–78.
- Gusella, J.F., Wexler, N.S., Conneally, P.M., Naylor, S.L., Anderson, M. a, Tanzi, R.E., Watkins, P.C., Ottina, K., Wallace, M.R., & Sakaguchi, a Y. (1983) A polymorphic DNA marker genetically linked to Huntington's disease. *Nature*, **306**, 234–238.
- Guzowski, J.F. (2002) Insights into immediate-early gene function in hippocampal memory consolidation using antisense oligonucleotide and fluorescent imaging approaches. *Hippocampus*, **12**, 86–104.
- Habib, M. (2006) Neurologie de l'action et de la motivation : de l'athymhormie à l'hyperactivité. *Encephale.*, **32**, 10–24.
- Halliday, G.M., McRitchie, D.A., Macdonald, V., Double, K.L., Trent, R.J., & McCusker, E. (1998)

- Regional specificity of brain atrophy in Huntington's disease. *Exp. Neurol.*, **154**, 663–672.
- Harjes, P. & Wanker, E.E. (2003) The hunt for huntingtin function: Interaction partners tell many different stories. *Trends Biochem. Sci.*, **28**, 425–433.
- Harper, P.S. (1992) The epidemiology of Huntington's disease. *Hum. Genet.*, **89**, 365–376.
- Harris, G.J., Aylward, E.H., Peyser, C.E., Pearlson, G.D., Brandt, J., Roberts-Twillie, J. V, Barta, P.E., & Folstein, S.E. (1996) Single photon emission computed tomographic blood flow and magnetic resonance volume imaging of basal ganglia in Huntington's disease. *Arch. Neurol.*, **53**, 316–324.
- Harris, J. & Westbrook, R. (1995) Effects of benzodiazepine microinjection into the amygdala or periaqueductal gray on the expression of conditioned fear and hypoalgesia in rats. *Behav. Neurosci.*, **109**, 295–304.
- Hedreen, J.C. & Folstein, S.E. (1995) Early loss of neostriatal striosome neurons in Huntington's disease. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, **54**, 105–120.
- Hedreen, J.C., Peyser, C.E., Folstein, S.E., & Ross, C. a (1991) Neuronal loss in layers V and VI of cerebral cortex in Huntington's disease. *Neurosci. Lett.*, **133**, 257–261.
- Hefter, H., Hömberg, V., Lange, H.W., & Freund, H.J. (1987) Impairment of rapid movement in Huntington's disease. *Brain*, **110** (Pt 3, 585–612.
- Heinsen, H., Strik, M., Bauer, M., Luther, K., Ulmar, G., Gangnus, D., Jungkunz, G., Eisenmengers, W., & Götz, M. (1994) Cortical and striatal neurone number in Huntington's disease. *Acta Neuropathol.*, **88**, 320–333.
- Henley, S.M.D., Wild, E.J., Hobbs, N.Z., Warren, J.D., Frost, C., Scahill, R.I., Ridgway, G.R., MacManus, D.G., Barker, R. a., Fox, N.C., & Tabrizi, S.J. (2008) Defective emotion recognition in early HD is neuropsychologically and anatomically generic. *Neuropsychologia*, **46**, 2152–2160.
- Hennessy, M.B., Kaiser, S., & Sachser, N. (2009) Social buffering of the stress response: Diversity, mechanisms, and functions. *Front. Neuroendocrinol.*, **30**, 470–482.
- Hickey, M. & Chesselet, M. (2003) The use of transgenic and knock-in mice to study Huntington's disease. *Cytogenet. Genome Res.*, **100**, 276–286.
- Hickey, M., Gallant, K., Gross, G.G., Levine, M.S., & Chesselet, M.F. (2005) Early behavioral deficits in R6/2 mice suitable for use in preclinical drug testing. *Neurobiol. Dis.*, **20**, 1–11.
- Hickey, M., Kosmalska, A., Enayati, J., Cohen, R., Zeitlin, S., Levine, M.S., & Chesselet, M.-F. (2008) Extensive early motor and non-motor behavioral deficits are followed by striatal neuronal loss in knock-in Huntington's disease mice. *Neuroscience*, **157**, 280–295.
- Hobbs, N.Z., Pedrick, A. V., Say, M.J., Frost, C., Dar Santos, R., Coleman, A., Sturrock, A., Craufurd, D., Stout, J.C., Leavitt, B.R., Barnes, J., Tabrizi, S.J., & Scahill, R.I. (2011) The structural involvement of the cingulate cortex in premanifest and early Huntington's disease. *Mov. Disord.*, **26**, 1684–1690.
- Hodgson, J.G., Agopyan, N., Gutekunst, C.A., Leavitt, B.R., Lepiane, F., Singaraja, R., Smith, D.J.,

- Bissada, N., McCutcheon, K., Nasir, J., Jamot, L., Xiao-Jiang, L., Stevens, M.E., Rosemond, E., Roder, J.C., Phillips, A.G., Rubin, E.M., Hersch, S.M., & Hayden, M.R. (1999) A YAC mouse model for Huntington's disease with full-length mutant huntingtin, cytoplasmic toxicity, and selective striatal neurodegeneration. *Neuron*, **23**, 181–192.
- Hoffner, G., Kahlem, P., & Djian, P. (2002) Perinuclear localization of huntingtin as a consequence of its binding to microtubules through an interaction with beta-tubulin: relevance to Huntington's disease. *J. Cell Sci.*, **115**, 941–948.
- Höhn, S., Dallérac, G., Faure, A., Urbach, Y.K., Nguyen, H.P., Riess, O., von Hörsten, S., Le Blanc, P., Desvignes, N., El Massioui, N., Brown, B.L., & Doyère, V. (2011) Behavioral and in vivo electrophysiological evidence for presymptomatic alteration of prefrontostriatal processing in the transgenic rat model for huntington disease. *J. Neurosci.*, **31**, 8986–8997.
- Holland, P. & Gallagher, M. (1999) Amygdala circuitry in attentional and representational processes. *Trends Cogn. Sci.*, **3**, 65–73.
- Holland, P.C. (1977) Conditioned stimulus as a determinant of the form of the Pavlovian conditioned response. *J. Exp. Psychol. Anim. Behav. Process.*, **3**, 77–104.
- Holland, P.C. & Bouton, M.E. (1999) Hippocampus and context in classical conditioning. *Curr. Opin. Neurobiol.*, **9**, 195–202.
- Holland, P.C., Han, J.-S., & Winifield, H.M. (2002) Operant and Pavlovian control of visual stimulus orienting and food-related behaviors in rats with lesions of the amygdala central nucleus. *Behav. Neurosci.*, **116**, 577–587.
- Hooks, M.S., Jones, G.H., Smith, a D., Neill, D.B., & Justice, J.B. (1991) Individual differences in locomotor activity and sensitization. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **38**, 467–470.
- Huang, E.J. & Reichardt, L.F. (2001) Neurotrophins: Roles in Neuronal Development and Function. *Annu. Rev. Neurosci.*, **24**, 677–736.
- Humbert, S. & Saudou, F. (2004) La huntingtine stimule le transport du BDNF. *Medecine/Sciences*, **20**, 952–954.
- Hunsaker, M.R. & Kesner, R.P. (2009) Dissociations Across the Dorsal-Ventral Axis of CA3 and CA1 for Encoding and Retrieval of Contextual and Auditory-Cued Fear. *Neurobiol Learn Mem.*, **89**, 61–69.
- Ille, R., Schäfer, A., Scharmüller, W., Enzinger, C., Schöggel, H., Kapfhammer, H.-P., & Schienle, A. (2011) Emotion recognition and experience in Huntington disease: a voxel-based morphometry study. *J. Psychiatry Neurosci.*, **36**, 383–390.
- Janak, P.H. & Tye, K.M. (2015) From circuits to behaviour in the amygdala. *Nature*, **517**, 284–292.
- Jansson, E.K.H., Clemens, L.E., Riess, O., & Nguyen, H.P. (2014) Reduced Motivation in the BACHD Rat Model of Huntington Disease Is Dependent on the Choice of Food Deprivation Strategy. *PLoS One*, **9**, e105662.
- Jech, R., Klempir, J., Vymazal, J., Zidovska, J., Klempirova, O., Ruzicka, E., & Roth, J. (2007) Variation of selective gray and white matter atrophy in Huntington's disease. *Mov Disord*, **22**, 1783–

1789.

- Johnson, S.A., Stout, J.C., Solomon, A.C., Langbehn, D.R., Aylward, E.H., Cruce, C.B., Ross, C. a., Nance, M., Kayson, E., Julian-Baros, E., Hayden, M.R., Kieburtz, K., Guttman, M., Oakes, D., Shoulson, I., Beglinger, L., Duff, K., Penziner, E., & Paulsen, J.S. (2007) Beyond disgust: Impaired recognition of negative emotions prior to diagnosis in Huntington's disease. *Brain*, **130**, 1732–1744.
- Jolkkonen, E. & Pitkänen, A. (1998) Intrinsic connections of the rat amygdaloid complex: Projections originating in the central nucleus. *J. Comp. Neurol.*, **395**, 53–72.
- Kabbaj, M., Devine, D.P., Savage, V.R., & Akil, H. (2000) Neurobiological correlates of individual differences in novelty-seeking behavior in the rat: differential expression of stress-related molecules. *J. Neurosci.*, **20**, 6983–6988.
- Kassubek, J., Juengling, F.D., Kioschies, T., Henkel, K., Karitzky, J., Kramer, B., Ecker, D., Andrich, J., Saft, C., Kraus, P., Aschoff, A.J., Ludolph, A.C., & Landwehrmeyer, G.B. (2004) Topography of cerebral atrophy in early Huntington's disease: a voxel based morphometric MRI study. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, **75**, 213–220.
- Kayahara, T. & Nakano, K. (1996) Pallido-thalamo-motor cortical connections: an electron microscopic study in the macaque monkey. *Brain Res.*, **706**, 337–342.
- Kaye, H. & Pearce, J.M. (1984) The strength of the orienting response during Pavlovian conditioning. *Q. J. Exp. Psychol. Sect. B Comp. Physiol. Psychol.*, **36**, 131–144.
- Kessler, C., Berglund, P., Demler, O., Jin, R., Merikangas, K., & Walters, E. (2005) Lifetime prevalence and age of onset distributions of DSM- IV disorders in the National Comorbidity Survey Replication. *Arch. Gen. Psychiatry*, **62**, 593–602.
- Kikusui, T., Winslow, J.T., & Mori, Y. (2006) Social buffering: relief from stress and anxiety. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.*, **361**, 2215–2228.
- Kim, J.J. & Fanselow, M.S. (1992) Modality-specific retrograde amnesia of fear. *Science (80-)*, **256**, 675–677.
- Kipps, C.M., Duggins, A.J., McCusker, E.A., & Calder, A.J. (2007) Disgust and happiness recognition correlate with anteroventral insula and amygdala volume respectively in preclinical Huntington's disease. *J. Cogn. Neurosci.*, **19**, 1206–1217.
- Kirschbaum, C., Klauer, T., Filipp, S.H., & Hellhammer, D.H. (1995) Sex-specific effects of social support on cortisol and subjective responses to acute psychological stress. *Psychosom. Med.*, **57**, 23–31.
- Kiyokawa, Y., Takeuchi, Y., & Mori, Y. (2007) Two types of social buffering differentially mitigate conditioned fear responses. *Eur. J. Neurosci.*, **26**, 3606–3613.
- Kiyokawa, Y., Wakabayashi, Y., Takeuchi, Y., & Mori, Y. (2012) The neural pathway underlying social buffering of conditioned fear responses in male rats. *Eur. J. Neurosci.*, **36**, 3429–3437.
- Kleinginna, P.R. & Kleinginna, A.M. (1981) A categorized list of emotion definitions, with suggestions for a consensual definition. *Motiv. Emot.*, **5**, 345–379.

- Klüver, H. & Bucy, P.C. (1939) Preliminary Analysis of Functions of the Temporal Lobes in Monkeys. *Arch. Neurol. Psychiatry*, **42**, 979–1000.
- Kordasiewicz, H.B., Stanek, L.M., Wancewicz, E. V., Mazur, C., McAlonis, M.M., Pytel, K. a., Artates, J.W., Weiss, A., Cheng, S.H., Shihabuddin, L.S., Hung, G., Bennett, C.F., & Cleveland, D.W. (2012) Sustained Therapeutic Reversal of Huntington's Disease by Transient Repression of Huntingtin Synthesis. *Neuron*, **74**, 1031–1044.
- Krawczak, M., Bockel, B., Sandkuijl, L., Thies, U., Fenton, I., & Harper, P.S. (1991) Covariate-dependent age-at-onset distributions for Huntington disease. *Am. J. Hum. Genet.*, **49**, 735–745.
- Kremer, B., Almqvist, E., Theilmann, J., Spence, N., Telenius, H., Goldberg, Y.P., & Hayden, M.R. (1995) Sex-dependent mechanisms for expansions and contractions of the CAG repeat on affected Huntington disease chromosomes. *Am. J. Hum. Genet.*, **57**, 343–350.
- Kremer, H.P., Roos, R.A., Dingjan, G., Marani, E., & Bots, G.T. (1990) Atrophy of the hypothalamic lateral tuberal nucleus in Huntington's disease. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, **49**, 371–382.
- Krettek, J.E. & Price, J.L. (1978) A description of the amygdaloid complex in the rat and cat with observations on intra-amygdaloid axonal connections. *J. Comp. Neurol.*, **178**, 255–280.
- Krobitsch, S. & Lindquist, S. (2000) Aggregation of huntingtin in yeast varies with the length of the polyglutamine expansion and the expression of chaperone proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **97**, 1589–1594.
- LaBar, K.S., Gatenby, J.C., Gore, J.C., LeDoux, J.E., & Phelps, E. a (1998) Human amygdala activation during conditioned fear acquisition and extinction: a mixed-trial fMRI study. *Neuron*, **20**, 937–945.
- Landegent, J.E., Jansen in de Wal, N., Fisser-Groen, Y.M., Bakker, E., van der Ploeg, M., & Pearson, P.L. (1986) Fine mapping of the Huntington disease linked D4S10 locus by non-radioactive in situ hybridization. *Hum. Genet.*, **73**, 354–357.
- Lange, H., Thörner, G., Hopf, A., & Schröder, K.F. (1976) Morphometric studies of the neuropathological changes in choreatic diseases. *J. Neurol. Sci.*, **28**, 401–425.
- Lanska, D., Lanska, M., Lavine, L., & Schoenberg, B. (1986) Conditions associated with Alzheimer's disease at death: case-control study. *Neurology*, **36**, 209–211.
- Lanska, D.J. (2010) George Huntington (1850–1916) and Hereditary Chorea. *J. Hist. Neurosci.*, **9**, 76–89.
- Lázaro-Muñoz, G., LeDoux, J.E., & Cain, C.K. (2010) Sidman instrumental avoidance initially depends on lateral and basal amygdala and is constrained by central amygdala-mediated Pavlovian processes. *Biol. Psychiatry*, **67**, 1120–1127.
- LeDoux, J. (1998) Fear and the brain: where have we been, and where are we going? *Biol. Psychiatry*, **44**, 1229–1238.
- LeDoux, J. (2000) Emotion circuits in the brain. *Annu. Rev. Neurosci.*, **23**, 155–184.

- LeDoux, J. (2007) The amygdala. *Curr. Biol.*, **17**, 868–874.
- LeDoux, J.E. (1995) Emotion: clues from the brain. *Annu. Rev. Psychol.*, **46**, 209–235.
- Li, H., Wyman, T., Yu, Z.X., Li, S.H., & Li, X.J. (2003) Abnormal association of mutant huntingtin with synaptic vesicles inhibits glutamate release. *Hum. Mol. Genet.*, **12**, 2021–2030.
- Li, S., Schilling, G., Young, W., Li, X., Margolis, R., Stine, O., Wagster, M., Abbott, M., Franz, M., & Ranen, N. (1993) Huntington's disease gene (IT15) is widely expressed in human and rat tissues. *Neuron*, **11**, 985–993.
- Li, S., Wang, Y., Xu, P., Pu, F., Li, D., Fan, Y., Gong, G., & Luo, Y. (2012) Surface morphology of amygdala is associated with trait anxiety. *PLoS One*, **7**, e47817.
- Likhtik, E., Stujenske, J.M., Topiwala, M.A., Harris, A.Z., & Gordon, J.A. (2014) Prefrontal entrainment of amygdala activity signals safety in learned fear and innate anxiety. *Nat. Neurosci.*, **17**, 106–113.
- Lopes, P., Salovey, P., Coté, S., & Beers, M. (2005) Emotion regulation abilities and the quality of social interaction. *Emotion*, **5**, 113–118.
- Louis, E.D., Anderson, K.E., Moskowitz, C., Thorne, D.Z., & Marder, K. (2000) Dystonia-predominant adult-onset Huntington disease: association between motor phenotype and age of onset in adults. *Arch. Neurol.*, **57**, 1326–1330.
- Lund, J.C. (1860) Chorea Sti Viti I Stersdalen. *Uddrag af Distriktsoege JC Lunds Med.*, 137–138.
- Macdonald, R.L. & Olsen, R.W. (1994) GABAA receptor channels. *Annu. Rev. Neurosci.*, **17**, 569–602.
- Macdonald, V., Halliday, G.M., Trent, R.J., & McCusker, E. a (1997) Significant loss of pyramidal neurons in the angular gyrus of patients with Huntington's disease. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.*, **23**, 492–495.
- Manfré, G., Doyère, V., Bossi, S., Riess, O., Phuc, H., & El Massioui, N. (n.d.) Impulsivity trait in the early symptomatic BACHD transgenic rat model of Huntington Disease. *Press.*
- Mangiarini, L., Sathasivam, K., Seller, M., Cozens, B., Harper, A., Hetherington, C., Lawton, M., Trottier, Y., Lehrach, H., Davies, S.W., & Bates, G.P. (1996) Exon I of the HD gene with an expanded CAG repeat is sufficient to cause a progressive neurological phenotype in transgenic mice. *Cell*, **87**, 493–506.
- Marsh, J.L., Pallos, J., & Thompson, L.M. (2003) Fly models of Huntington's disease. *Hum. Mol. Genet.*, **12**, R187–R193.
- Martin, A. (1923) History of dancing mania. *Am J Clin Med*, **30**, 265–271.
- Matusch, A., Saft, C., Elmenhorst, D., Kraus, P.H., Gold, R., Hartung, H.-P., & Bauer, A. (2014) Cross sectional PET study of cerebral adenosine A₁ receptors in premanifest and manifest Huntington's disease. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*, **41**, 1210–1220.
- Mcdannald, M., Kerfoot, E., Gallagher, M., & Holland, P.C. (2004) Amygdala central nucleus function is necessary for learning but not expression of conditioned visual orienting. *Eur. J. Neurosci.*,

20, 240–248.

- McDonald, a J. (1982) Cytoarchitecture of the central amygdaloid nucleus of the rat. *J. Comp. Neurol.*, **208**, 401–418.
- McGaugh, J.L. (2000) Memory - a century of consolidation. *Science (80-)*, **287**, 248–251.
- McGuire, J.R., Rong, J., Li, S.H., & Li, X.J. (2006) Interaction of Huntingtin-associated protein-1 with kinesin light chain: Implications in intracellular trafficking in neurons. *J. Biol. Chem.*, **281**, 3552–3559.
- Mehler, W.R. (1971) Idea of a new anatomy of the thalamus. *J Psychiat Res*, **8**, 203–217.
- Menalled, L., El-khodor, B.F., Patry, M., Suarez-farinas, M., Zahasky, B., Leahy, C., Wheeler, V., Yang, X.W., Macdonald, M., Morton, J. a, Bates, G., Leeds, J., Park, L., Signer, E., Tobin, A., & Brunner, D. (2009) Systematic behavioral evaluation of Huntington ' s disease transgenic and knock-in mouse models. *Neurobiol. Dis.*, **35**, 319–336.
- Meriin, A.B., Zhang, X., He, X., Newnam, G.P., Chernoff, Y.O., & Sherman, M.Y. (2002) Huntingtin toxicity in yeast model depends on polyglutamine aggregation mediated by a prion-like protein Rnq1. *J. Cell Biol.*, **157**, 997–1004.
- Meyer, P.J., Lovic, V., Saunders, B.T., Yager, L.M., Flagel, S.B., Morrow, J.D., & Robinson, T.E. (2012) Quantifying Individual Variation in the Propensity to Attribute Incentive Salience to Reward Cues. *PLoS One*, **7**.
- Milad, M.R. & Quirk, G.J. (2012) Fear extinction as a model for translational neuroscience: ten years of progress. *Annu. Rev. Psychol.*, **63**, 129–151.
- Miller, V.M., Nelson, R.F., Gouvion, C.M., Williams, A., Rodriguez-Lebron, E., Harper, S.Q., Davidson, B.L., Rebagliati, M.R., & Paulson, H.L. (2005) CHIP suppresses polyglutamine aggregation and toxicity in vitro and in vivo. *J. Neurosci.*, **25**, 9152–9161.
- Mineka, S. & Zinbarg, R. (2006) A contemporary learning theory perspective on the etiology of anxiety disorders: It's not what you thought it was. *Am. Psychol.*, **61**, 10–26.
- Mizuno, K., Tanaka, M., Ishii, A., Tanabe, H.C., Onoe, H., Sadato, N., & Watanabe, Y. (2008) The neural basis of academic achievement motivation. *Neuroimage*, **42**, 369–378.
- Montoya, A., Price, B.H., Menear, M., & Lepage, M. (2006) Brain imaging and cognitive dysfunctions in Huntington ' s disease. *J. psychiatry Neurosci.*, **31**, 21–29.
- Morrow, J.D., Maren, S., & Robinson, T.E. (2012) Individual Variation in the Propensity to Attribute Incentive Salience to an Appetitive Cue Predicts the Propensity to Attribute Motivational Salience to an Aversive Cue. *Behav Brain Res*, **220**, 238–243.
- Moscarello, J.M. & LeDoux, J.E. (2013) Active Avoidance Learning Requires Prefrontal Suppression of Amygdala-Mediated Defensive Reactions. *J. Neurosci.*, **33**, 3815–3823.
- Myers, R., Goldman, D., Bird, E., Sax, S., Merril, C., Schoenfeld, M., & Wolf, P. (1983) Maternal transmission in Maternal transmission in Huntington's disease. *Lancet*, **1**, 208–210.
- Myers, R.H. (2004) Huntington ' s Disease Genetics. *Am. Soc. Exp. Neurother.*, **1**, 255–262.

- Nagy, J., Zambo, K., & Decsi, L. (1979) Anti-anxiety action of diazepam after intra- amygdaloid application in the rat. *Neuropharmacology*, **18**, 573–576.
- Nambu, A., Tokuno, H., & Takada, M. (2002) Functional significance of the cortico-subthalamo-pallidal “hyperdirect” pathway. *Neurosci. Res.*, **43**, 111–117.
- Nasir, J., Floresco, S.B., O’Kusky, J.R., Diewert, V.M., Richman, J.M., Zeisler, J., Borowski, A., Marth, J.D., Phillips, A.G., & Michael R. Hayden (1995) Targeted disruption of the Huntington’s disease gene results in embryonic lethality and behavioral and morphological changes in heterozygotes. *Cell*, **81**, 811–823.
- Nguyen, H.P., Kobbe, P., Rahne, H., Wörpel, T., Jäger, B., Stephan, M., Pabst, R., Holzmann, C., Riess, O., Korr, H., Kántor, O., Petrasch-Parwez, E., Wetzel, R., Osmand, A., & von Hörsten, S. (2006) Behavioral abnormalities precede neuropathological markers in rats transgenic for Huntington’s disease. *Hum. Mol. Genet.*, **15**, 3177–3194.
- Nithianantharajah, J., Barkus, C., Murphy, M., & Hannan, A.J. (2008) Gene-environment interactions modulating cognitive function and molecular correlates of synaptic plasticity in Huntington’s disease transgenic mice. *Neurobiol. Dis.*, **29**, 490–504.
- Novak, M.J.U. & Tabrizi, S.J. (2011) *Huntington’s Disease: Clinical Presentation and Treatment*, International Review of Neurobiology. Elsevier Inc.
- Ohman, A. (2000) Fear and anxiety: Evolutionary, cognitive, and clinical perspectives. *Handb. Emot.*, **2**, 573–593.
- Olsen, R.W. (1981) GABA-benzodiazepine-barbiturate receptor interactions. *J. Neurochem.*, **37**, 1–13.
- Olsen, W. & Tobin, J. (1990) Molecular biology of GABAA receptor. *FASEB J.*, **4**, 1469–1480.
- Orvoen, S., Pla, P., Gardier, A.M., Saudou, F., & David, D.J. (2011) Huntington’s disease knock-in male mice show specific anxiety-like behaviour and altered neuronal maturation. *Neurosci. Lett.*, **507**, 127–132.
- Paré, D. & Duvarci, S. (2012) Amygdala microcircuits mediating fear expression and extinction. *Curr. Opin. Neurobiol.*, **22**, 717–723.
- Paré, D., Quirk, G.J., & Ledoux, J.E. (2004) New vistas on amygdala networks in conditioned fear. *J. Neurophysiol.*, **92**, 1–9.
- Paré, D., Royer, S., Smith, Y., & Lang, E.J. (2003) Contextual inhibitory gating of impulse traffic in the intra-amygdaloid network. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **985**, 78–91.
- Parent, A. (1990) Extrinsic connections of the basal ganglia. *Trends Neurosci.*, **13**, 254–258.
- Parent, A. & Hazrati, L. (1993) Anatomical aspects of information processing in primate basal ganglia. *Trends Neurosci.*, **16**, 1993.
- Parker, J. a, Connolly, J.B., Wellington, C., Hayden, M., Dausset, J., & Neri, C. (2001) Expanded polyglutamines in *Caenorhabditis elegans* cause axonal abnormalities and severe dysfunction of PLM mechanosensory neurons without cell death. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **98**, 13318–

13323.

- Paulsen, J., Langbehn, D., Stout, J., Aylward, E., Ross, C., Nance, M., Guttman, M., Johnson, S., MacDonald, M., Beglinger, L., Duff, K., Kayson, E., Biglan, K., Shoulson, I., Oakes, D., & Hayden, M. (2008) Detection of Huntington's disease decades before diagnosis: the Predict-HD study. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, **79**, 874–880.
- Paulsen, J., Nehl, C., Hoth, K., Kanz, J., Benjamin, M., Conybeare, R., McDowell, B., & Turner, B. (2005) Depression and stages of Huntington's disease. *J. Neuropsychiatry Clin. Neurosci.*, **17**, 496–502.
- Paulsen, J., Ready, R., Hamilton, J., Mega, M., & Cummings, J. (2001) Neuropsychiatric aspects of Huntington's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, **71**, 310–314.
- Pavese, N., Andrews, T.C., Brooks, D.J., Ho, a. K., Rosser, a. E., Barker, R. a., Robbins, T.W., Sahakian, B.J., Dunnett, S.B., & Piccini, P. (2003) Progressive striatal and cortical dopamine receptor dysfunction in Huntington's disease: a PET study. *Brain*, **126**, 1127–1135.
- Penzo, M. a, Robert, V., & Li, B. (2014) Fear conditioning potentiates synaptic transmission onto long-range projection neurons in the lateral subdivision of central amygdala. *J. Neurosci.*, **34**, 2432–2437.
- Pessoa, L. (2013) The cognitive-emotional brain: From interactions to integration . *MIT Press*, 2013.
- Petrasch-Parwez, E., Nguyen, H., Wiczorek, S., Riess, O., & Andres, K. (2007) Cellular and Subcellular Localization of Huntington Aggregates in the Brain of a Rat Transgenic for Huntington Disease. *J. Comp. Neurol.* 501716–730, **730**, 716–730.
- Phillips, R., & LeDoux, J.E. (1992) Differential contribution of amygdala and hippocampus to cued and contextual fear conditioning. *Behav. Neurosci.*, **106**, 274–285.
- Piazza, P. V, Maccari, S., Deminière, J.M., Le Moal, M., Mormède, P., & Simon, H. (1991) Corticosterone levels determine individual vulnerability to amphetamine self-administration. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **88**, 2088–2092.
- Pla, P., Orvoen, S., Benstaali, C., Dodier, S., Gardier, A.M., David, D.J., Humbert, S., & Saudou, F. (2013) Huntingtin Acts Non Cell-Autonomously on Hippocampal Neurogenesis and Controls Anxiety-Related Behaviors in Adult Mouse. *PLoS One*, **8**, 1–12.
- Quirk, G.J., Likhtik, E., Pelletier, J.G., & Paré, D. (2003) Stimulation of medial prefrontal cortex decreases the responsiveness of central amygdala output neurons. *J. Neurosci.*, **23**, 8800–8807.
- Reiner, A., Albin, R.L., Anderson, K.D., D'Amato, C.J., Penney, J.B., & Young, A.B. (1988) Differential loss of striatal projection neurons in Huntington disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **85**, 5733–5737.
- RightDiagnosis (n.d.) Incidence Maladie de Huntington. http://www.rightdiagnosis.com/h/huntingtons_disease/stats-country.htm.
- Robotham, L., Sauter, D. a, Bachoud-Lévi, A.-C., & Trinkler, I. (2011) The impairment of emotion recognition in Huntington's disease extends to positive emotions. *Cortex*, **47**, 880–884.

- Rodda, R.A. (1981) Cerebellar Atrophy in Huntington's Disease. *J. Neurol. Sci.*, **50**, 147–157.
- Rosas, H.D., Koroshetz, W.J., Chen, Y.I., Skeuse, C., Vangel, M., Cudkowicz, M.E., Caplan, K., Marek, K., Seidman, L.J., Makris, N., Jenkins, B.G., & Goldstein, J.M. (2003) Evidence for more widespread cerebral pathology in early HD: an MRI-based morphometric analysis. *Neurology*, **60**, 1615–1620.
- Rosenblatt, A. & Leroi, I. (2000) Neuropsychiatry of Huntington's disease and other basal ganglia disorders. *Psychosomatics*, **41**, 24–30.
- Ross, C. a (2002) Polyglutamine Pathogenesis: Emergence of Unifying Mechanisms for Huntington's Disease and Related Disorders. *Neuron*, **35**, 819–822.
- Rudenko, O., Tkach, V., Berezin, V., & Bock, E. (2009) Detection of early behavioral markers of Huntington's disease in R6/2 mice employing an automated social home cage. *Behav. Brain Res.*, **203**, 188–199.
- Samson, R.D., Duvarci, S., & Paré, D. (2005) Synaptic plasticity in the central nucleus of the amygdala. *Rev. Neurosci.*, **16**, 287–302.
- Sanders, S.K. & Shekhar, A. (1995) Regulation of Anxiety by GABA * Receptors in the Rat Amygdala. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **52**, 701–706.
- Sarter, M. & Markowitsch, H. (1985) Involvement of the amygdala in learning and memory: a critical review, with emphasis on anatomical relations. *Behav. Neurosci.*, **99**, 342–380.
- Sato, K. & Abe, K. (2002) Juvenile onset Huntington's disease: correlation with progressive myoclonus epilepsy. *Ryoikibetsu Shokogun Shirizu*, 198–200.
- Saudou, F., Finkbeiner, S., Devys, D., & Greenberg, M.E. (1998) Huntingtin acts in the nucleus to induce apoptosis but death does not correlate with the formation of intranuclear inclusions. *Cell*, **95**, 55–56.
- Schulte, J. & Littleton, T. (2011) The biological function of the Huntingtin protein and its relevance to Huntington's Disease pathology. *Curr trends Neurol*, **1**, 65–78.
- Selemon, L.D., Rajkowska, G., & Goldman-Rakic, P.S. (2004) Evidence for Progression in Frontal Cortical Pathology in Late-Stage Huntington's Disease. *J. Comp. Neurol.*, **468**, 190–204.
- Shao, J. & Diamond, M.I. (2007) Polyglutamine diseases: Emerging concepts in pathogenesis and therapy. *Hum. Mol. Genet.*, **16**, 115–123.
- Sharp, A. & Ross, C. (1996) Neurobiology of Huntington's Disease. *Neurobiol. Dis.*, **15**, 3–15.
- Simpson, S. & Johnston, A. (1989) The prevalence and patterns of care of Huntington's chorea in Grampian. *Br. J. Psychiatry*, **155**, 799–804.
- Slow, E.J., van Raamsdonk, J., Rogers, D., Coleman, S.H., Graham, R.K., Deng, Y., Oh, R., Bissada, N., Hossain, S.M., Yang, Y.Z., Li, X.J., Simpson, E.M., Gutekunst, C.A., Leavitt, B.R., & Hayden, M.R. (2003) Selective striatal neuronal loss in a YAC128 mouse model of Huntington disease. *Hum. Mol. Genet.*, **12**, 1555–1567.
- Smith, Y., Bevan, M.D., Shink, E., & Bolam, J.P. (1998) Microcircuitry of the direct and indirect

pathways of the basal ganglia. *Neuroscience*, **86**, 353–387.

- Snowden, J., Craufurd, D., Griffiths, H., & Neary, D. (1998) Awareness of involuntary movements in Huntington disease. *Arch. Neurol.*, **55**, 801–805.
- Snowden, J., Gibbons, Z., Blackshaw, A., Doubleday, E., Thompson, J., Craufurd, D., Foster, J., Happé, F., & Neary, D. (2003) Social cognition in frontotemporal dementia and Huntington's disease. *Neuropsychologia*, **41**, 688–701.
- Sørensen, S. a & Fenger, K. (1992) Causes of death in patients with Huntington's disease and in unaffected first degree relatives. *J. Med. Genet.*, **29**, 911–914.
- Sotrel, A., Paskevich, P., Kiely, D., Bird, E., Williams, R., & Myers, R. (1991) Morphometric analysis of the prefrontal cortex in Huntington's disease. *Neurology*, **41**, 1117–1123.
- Sotrel, A., Williams, R.S., Kaufmann, W.E., & Myers, R.H. (1993) Evidence for neuronal degeneration and dendritic plasticity in cortical pyramidal neurons of Huntington's disease: a quantitative Golgi study. *Neurology*, **43**, 2088–2096.
- Sprengelmeyer, R., Schroeder, U., Young, a W., & Epplen, J.T. (2006) Disgust in pre-clinical Huntington's disease: a longitudinal study. *Neuropsychologia*, **44**, 518–533.
- Sprengelmeyer, R., Young, A.W., Calder, A.J., Karnat, A., Lange, H., Homberg, V., Perrett, D.I., & Rowland, D. (1996) Perception of faces and emotions in Huntington ' s disease. *Brain*, **i**, 1647–1665.
- Squitieri, F., Cannella, M., Sgarbi, G., Maglione, V., Falleni, A., Lenzi, P., Baracca, A., Cislighi, G., Saft, C., Ragona, G., Russo, M. a., Thompson, L.M., Solaini, G., & Fornai, F. (2006) Severe ultrastructural mitochondrial changes in lymphoblasts homozygous for Huntington disease mutation. *Mech. Ageing Dev.*, **127**, 217–220.
- Stead, J.D., Clinton, S., Neal, C., Schneider, J., Jama, A., Miller, S., Vazquez, D.M., Watson, S.J., & Akil, H. (2006) Selective breeding for divergence in novelty-seeking traits: heritability and enrichment in spontaneous anxiety-related behaviors. *Behav Genet*, **36**, 697–712.
- Strong, T. V, Tagle, D. a, Valdes, J.M., Elmer, L.W., Boehm, K., Swaroop, M., Kaatz, K.W., Collins, F.S., & Albin, R.L. (1993) Widespread expression of the human and rat Huntington's disease gene in brain and nonneural tissues. *Nat. Genet.*, **5**, 259–265.
- Swanson, L.W. & Petrovich, G.D. (1998) What is the amygdala ? *Trends Neurosci*, **21**, 323–331.
- Temel, Y., Blokland, A., Steinbusch, H.W.M., & Visser-Vandewalle, V. (2005) The functional role of the subthalamic nucleus in cognitive and limbic circuits. *Prog. Neurobiol.*, **76**, 393–413.
- The Huntington's Disease Collaborative Research Group (1993) A Novel Gene Containing A Trinucleotide Repeat That Is Expanded and Unstable on Huntingtons-Disease Chromosomes. *Cell*, **72**, 971–983.
- Thieben, M.J., Duggins, A.J., Good, C.D., Gomes, L., Mahant, N., Richards, F., Mccusker, E., & Frackowiak, R.S.J. (2002) The distribution of structural neuropathology in pre-clinical Huntington ' s disease. *Brain*, **4**, 1815–1828.

- Thorsteinsson, E., James, J., & Gregg, M. (1998) Effects of video-relayed social support on hemodynamic reactivity and salivary cortisol during laboratory-based behavioral challenge. *Heal. Psychol.*, **17**, 436–444.
- Tippett, L.J., Waldvogel, H.J., Thomas, S.J., Hogg, V.M., van Roon-Mom, W., Synek, B.J., Graybiel, A.M., & Faull, R.L.M. (2007) Striosomes and mood dysfunction in Huntington's disease. *Brain*, **130**, 206–221.
- Trottier, Y., Devys, D., Imbert, G., Saudou, F., An, I., Lutz, Y., Weber, C., Agid, Y., Hirsch, E.C., & Mandel, J.L. (1995) Cellular localization of the Huntington's disease protein and discrimination of the normal and mutated form. *Nat. Genet.*, **10**, 104–110.
- Urbach, Y.K., Bode, F.J., Nguyen, H.P., Riess, O., & Hörsten, S. Von (2010) Neurobehavioral Tests in Rat Models of Degenerative Brain Diseases. *Rat Genomics Methods Protoc. Methods Mol. Biol. vol.*, Methods in Molecular Biology, **597**.
- Vale, T.C. & Cardoso, F. (2015) Chorea : A Journey through History. *Tremor and Other Hyperkinetic Movements*, **5**, 1–6.
- Valenza, M., Rigamonti, D., Goffredo, D., Zuccato, C., Fenu, S., Jamot, L., Strand, A., Tarditi, A., Woodman, B., Racchi, M., Mariotti, C., Di Donato, S., Corsini, A., Bates, G., Pruss, R., Olson, J.M., Sipione, S., Tartari, M., & Cattaneo, E. (2005) Dysfunction of the cholesterol biosynthetic pathway in Huntington's disease. *J. Neurosci.*, **25**, 9932–9939.
- van Duijn, E., Kingma, E.M., & van der Mast, R.C. (2007) Psychopathology in verified Huntington's disease gene carriers. *J. Neuropsychiatry Clin. Neurosci.*, **19**, 441–448.
- van Duuren, E., van der Plasse, G., van der Blom, R., Joosten, R.N.J.M.A., Mulder, A.B., Pennartz, C.M.A., & Feenstra, M.G.P. (2007) Pharmacological manipulation of neuronal ensemble activity by reverse microdialysis in freely moving rats: a comparative study of the effects of tetrodotoxin, lidocaine, and muscimol. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **323**, 61–69.
- Van Raamsdonk, J.M., Murphy, Z., Slow, E.J., Leavitt, B.R., & Hayden, M.R. (2005) Selective degeneration and nuclear localization of mutant huntingtin in the YAC128 mouse model of Huntington disease. *Hum. Mol. Genet.*, **14**, 3823–3835.
- Van Raamsdonk, J.M., Pearson, J., Slow, E.J., Hossain, S.M., Leavitt, B.R., & Hayden, M.R. (2005) Cognitive dysfunction precedes neuropathology and motor abnormalities in the YAC128 mouse model of Huntington's disease. *J. Neurosci.*, **25**, 4169–4180.
- Ventura-Silva, A.P., Melo, A., Ferreira, A.C., Carvalho, M.M., Campos, F.L., Sousa, N., & Pêgo, J.M. (2013) Excitotoxic lesions in the central nucleus of the amygdala attenuate stress-induced anxiety behavior. *Front. Behav. Neurosci.*, **7**, 32.
- Von Horsten, S., Schmitt, I., Nguyen, H.P., Holzmann, C., Schmidt, T., Walther, T., Bader, M., Pabst, R., Kobbe, P., Krotova, J., Stiller, D., Kask, A., Vaarmann, A., Rathke-Hartlieb, S., Schulz, J.B., Grasshoff, U., Bauer, I., Vieira-Saecker, a. M.M., Paul, M., Jones, L., Lindenberg, K.S., Landwehrmeyer, B., Bauer, A., Li, X.-J., & Riess, O. (2003) Transgenic rat model of Huntington's disease. *Hum. Mol. Genet.*, **12**, 617–624.
- Vonsattel, J., Myers, R., Stevens, T., Ferrante, R., Bird, E., & Richardson, E.J. (1985)

- Neuropathological classification of Huntington ' s disease . *J Neuroptol Exp Neurol*, **44**, 559–577.
- Vonsattel, J.-P.G. & DiFiglia, M. (1998) Huntington Disease. *J Neuroptol Exp Neurol*, **57**, 369–384.
- Vonsattel, J.P.G., Keller, C., & Del Pilar, A.M. (2008) Neuropathology of Huntington's disease. *Handb clin Neurol*, **89**, 9752.
- Wakai, M., Takahashi, A., & Hashizume, Y. (1993) A histometrical study on the globus pallidus in Huntington ' s disease. *J. Neurol. Sci.*, **119**, 18–27.
- Waldvogel, H.J., Kim, E.H., Tippett, L.J., Vonsattel, J.-P.G., & Faull, R.L. (2014) The Neuropathology of Huntington's Disease. *Brain Imaging Behav. Neurosci.*, 289–320.
- Walker, D.L., Toufexis, D.J., & Davis, M. (2003) Role of the bed nucleus of the stria terminalis versus the amygdala in fear, stress, and anxiety. *Eur. J. Pharmacol.*, **463**, 199–216.
- Watkins, L.H. a, Rogers, R.D., Lawrence, a D., Sahakian, B.J., & Rosser, a E. (2000) Impaired planning but intact decision making in early Huntington ' s disease : implications for specific fronto-striatal pathology. *Neuropsychologia*, **38**, 1112–1125.
- Weiskrantz, L. (1956) Behavioral changes associated with ablation of the amygdaloid complex in monkeys. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, **49**, 381–391.
- Wetzel, R. (2012) Physical chemistry of polyglutamine: Intriguing tales of a monotonous sequence. *J Mol Biol*, **421**, 466–490.
- Whitehouse, P., Trifiletti, R., Jones, B., Folstein, S., Price, D., Snyder, S., & Kuhar, M. (1985) Neurotransmitter receptor alterations in Huntington's disease: autoradiographic and homogenate studies with special reference to benzodiazepine receptor complexes. *Ann Neurol*, **18**, 202–210.
- Wilensky, A.E., Schafe, G.E., Kristensen, M.P., & LeDoux, J.E. (2006) Rethinking the fear circuit: the central nucleus of the amygdala is required for the acquisition, consolidation, and expression of Pavlovian fear conditioning. *J. Neurosci.*, **26**, 12387–12396.
- Wolf, R.C., Sambataro, F., Vasic, N., Schönfeldt-Lecuona, C., Ecker, D., & Landwehrmeyer, B. (2008) Altered frontostriatal coupling in pre-manifest Huntington's disease: Effects of increasing cognitive load. *Eur. J. Neurol.*, **15**, 1180–1190.
- Xiu, J., Zhang, Q., Zhou, T., Zhou, T., Chen, Y., & Hu, H. (2014) Visualizing an emotional valence map in the limbic forebrain by TAI-FISH. *Nat. Neurosci.*, **17**, 1552–1559.
- Yang, S.-H., Cheng, P.-H., Banta, H., Piotrowska-Nitsche, K., Yang, J.-J., Cheng, E.C.H., Snyder, B., Larkin, K., Liu, J., Orkin, J., Fang, Z.-H., Smith, Y., Bachevalier, J., Zola, S.M., Li, S.-H., Li, X.-J., & Chan, A.W.S. (2008) Towards a transgenic model of Huntington's disease in a non-human primate. *Nature*, **453**, 921–924.
- Young, A.B., Greenamyre, J.T., Hollingsworth, Z.R., Albin, R.L., D'Amato, C., Shoulson, I., & Penney, J.B. (1988) NMDA receptor losses in putamen from patients with Huntington's disease. *Science (80-)*, **241**, 981–983.

- Yu-Taeger, L., Petrasch-Parwez, E., Osmand, A.P., Redensek, A., Metzger, S., Clemens, L.E., Park, L., Howland, D., Calaminus, C., Gu, X., Pichler, B., Yang, X.W., Riess, O., & Nguyen, H.P. (2012) A Novel BACHD Transgenic Rat Exhibits Characteristic Neuropathological Features of Huntington Disease. *J. Neurosci.*, **32**, 15426–15438.
- Zeitlin, S., Liu, J.P., Chapman, D.L., Papaioannou, V.E., & Efstratiadis, a (1995) Increased apoptosis and early embryonic lethality in mice nullizygous for the Huntington's disease gene homologue. *Nat. Genet.*, **11**, 155–163.
- Zhang, Y., Leavitt, B.R., van Raamsdonk, J.M., Dragatsis, I., Goldowitz, D., MacDonald, M.E., Hayden, M.R., & Friedlander, R.M. (2006) Huntingtin inhibits caspase-3 activation. *EMBO J.*, **25**, 5896–5906.
- Zuccato, C., Valenza, M., & Cattaneo, E. (2010) Molecular Mechanisms and Potential Therapeutical Targets in Huntington ' s Disease. *Physiol Rev*, **90**, 905–981.

Titre : Rôle de l'Amygdale dans les symptômes émotionnels de la maladie de Huntington : étude d'un modèle de rat transgénique, BACHD.

Mots clés : Huntington ; Emotion ; Anxiété ; Amygdale ; Cognition

Résumé : La Maladie de Huntington (MH) est une pathologie génétique neurodégénérative, causée par un nombre anormalement élevé de répétitions du codon CAG dans le gène codant pour la protéine huntingtine (htt). A un stade pré-symptomatique (avant les symptômes moteurs), des troubles émotionnels sont souvent observés chez les patients MH, tels une agitation, une anxiété, une irritabilité ainsi qu'une tendance à la dépression, une apathie et une perte du contrôle émotionnel.

Dans le but d'étudier la physiopathologie sous-jacentes aux (dys)fonctions émotionnelles de la MH, nous analysons le rôle de l'amygdale (en particulier le noyau central (CeA)). Cette structure est connue pour être impliquée dans la régulation du processus émotionnel et avoir un volume réduit ainsi qu'un grand nombre d'agrégats chez les patients et chez des modèles animaux transgéniques.

Afin d'étudier les symptômes émotionnels de la MH, nous avons utilisé un modèle de rats transgéniques récent, les BACHD. Nos résultats montrent que ces animaux sont hyper-anxieux et hyper-réactifs face aux situations menaçantes à un stade précoce de la maladie. Ces rats BACHD présentent également un nombre élevé d'agrégats de grande taille augmentant en fonction de l'âge spécifiquement dans le CeA par rapport au noyau basolateral (BLA). De plus, la modulation pharmacologique du CeA entraîne un effet comportemental différentiel chez les rats BACHD par rapport aux rats normaux, attestant d'un défaut fonctionnel de cette structure à un stade précoce de la maladie. Finalement, l'hyper-activité cellulaire observée dans le CeA (partie médiane) des rats BACHD pourrait expliquer l'hyper-réactivité émotionnelle de ces animaux et participer aux troubles émotionnels de la MH.

Title : Role of Amygdala in emotional symptoms in Huntington disease : study of transgenic rat model, BACHD rats.

Keywords : Huntington ; Emotion ; Anxiety ; Amygdala ; Cognition

Abstract : Huntington's disease (HD) is a genetic neurodegenerative disorder, caused by an expanded CAG repeat in the gene encoding the huntingtin protein. At the presymptomatic phase, before motor symptoms occur, psychiatric and emotional disorders are observed with high prevalence in HD patients. Agitation, anxiety and irritability are often described but also depression and/or apathy, associated with a lack of emotional control.

In search of the pathophysiology underlying the emotional (dys)functions of HD, we studied the role of the amygdala (especially the central nucleus (CeA)). This structure is known to be involved in emotional regulation and has a reduced volume and a large number of aggregates in both patients and transgenic rat models.

To study the emotional symptoms of HD we used a recent model of transgenic rats, BACHD. Our results show that these animals are hyper-anxious and hyper-reactive to threatening situations at an early stage of the disease. BACHD rats also have a high number of large aggregates, increasing with age, specifically in the CeA compared to the basolateral nucleus (BLA). In addition, pharmacological modulation of the CeA induce differential behavioral effects in BACHD rats compared to WT rats, evidencing a functional deficit of the structure at an early stage of the disease. Finally, the cellular hyper-activity observed in the CeA (medial part) of BACHD rats could account for the emotional hyper-reactivity of these animals and participate of emotional disorders of HD.