

N° d'ordre : 2521

# THESE

PRESENTEE A

## L'UNIVERSITE DE BORDEAUX I

ECOLE DOCTORALE : Sciences du vivant, Géosciences, Sciences de l'environnement

PAR

**Aurélie CÉLÉRIER**

POUR OBTENIR LE GRADE DE

### DOCTEUR

SPECIALITE : NEUROSCIENCES ET PHARMACOLOGIE

---

**ETUDE DES EFFETS DU STRESS SUR LES PROCESSUS DE  
RESTITUTION MNÉSIQUE CHEZ LA SOURIS NORMALE OU  
ALCOOLISÉE : APPROCHES COMPORTEMENTALE,  
PHARMACOLOGIQUE ET NEUROBIOLOGIQUE**

---

**Soutenu le 27 juin 2002**

**Après avis de:**

Mr. G. CHAPOUTHIER (D.R. CNRS, Université Paris VI).....Rapporteurs  
Mr. G. DI SCALA (D.R. CNRS, Université de Strasbourg)

**Devant la commission d'examen formée de:**

Mr. R. JAFFARD (Pr., Université Bordeaux I).....Président  
Mr. D. BERACOCHEA (C.R. CNRS, Université Bordeaux I).....Directeur de thèse  
Mme C. BELZUNG (Pr., Université Tours) ..... Examineurs  
Mr. G. CHAPOUTHIER (D.R. CNRS, Université Paris VI)  
Mr. G. DI SCALA (D.R. CNRS, Université de Strasbourg)  
Mr. A. SARRIEAU (Pr., Université Bordeaux I)

**--2002--**



Le travail présenté dans ce mémoire a été réalisé au Laboratoire de Neurosciences Cognitives de l'Université de Bordeaux I (UMR CNRS 5106).

Monsieur le professeur Robert Jaffard est à l'origine de mon intérêt pour les Neurosciences d'abord parce que son enseignement passionnant a orienté mon chemin vers les mystères du cerveau et de la mémoire et ensuite parce qu'il a accepté de m'accueillir dans son laboratoire. J'exprime ici ma profonde admiration pour l'homme de science et le fin pédagogue. Je le remercie pour l'honneur qu'il me fait en acceptant de présider le jury de thèse et pour la bienveillance du regard qu'il a porté sur l'ensemble de mon travail. Un seul regret : impressionnée par son charisme et sa renommée, je n'ai que trop rarement osé frapper à sa porte.

Monsieur le Docteur Daniel Béracochéa a dirigé ce travail avec tout l'enthousiasme et le dynamisme qui le caractérise: je tiens tout d'abord à remercier le scientifique créatif et passionné, toujours en ébullition, qui m'a fait découvrir les joies (et les tortures) du questionnement scientifique et l'excitation de la découverte. Les nombreuses discussions stimulantes, les conseils toujours pertinents et l'appui matériel et logistique particulièrement conséquent m'ont permis d'accomplir ces années de thèse dans des conditions idéales. Ensuite, je souhaite exprimer ma profonde estime à l'homme patient, indulgent et ouvert, qui m'a témoigné une confiance sans faille, m'a rassuré dans les (nombreux) moments de doutes, m'a accordé une grande autonomie, tout en me guidant avec lucidité et clairvoyance.

Messieurs les Docteurs Georges Di Scala et Georges Chapouthier, ont accepté d'être les rapporteurs de cette thèse. Je leur en suis extrêmement reconnaissante, d'autant que les remarques formulées, à la fois précises, critiques et indulgentes, témoignent de l'attention qu'ils ont accordées à ce mémoire et de leur bienveillance à mon égard. Nul doute que leurs commentaires stimuleront des expériences complémentaires, voire des collaborations suivies.

Merci à Madame le professeur Catherine Belzung qui a bien voulu participer à ce jury malgré un emploi du temps très chargé. Je suis très honorée de connaître enfin l'auteur de ces excellents travaux sur la mémoire et les émotions et j'espère que les occasions d'échanger ne manqueront pas de se renouveler à l'avenir.

La collaboration avec Monsieur le professeur Alain Sarrieau a apporté à ce travail une dimension neurobiologique supplémentaire. Je le remercie de m'avoir fait partager un peu de son savoir et d'avoir accepté de juger cette thèse concernant pourtant un domaine assez éloigné du sien.

Nicole, Stéphanie, Julie et Julie, Stéphane, Ludo et tous les autres étudiants ( la liste est longue ! ) ont partagé (ou subi) avec moi, cafés-prise-de-tête-résultats-bizarres, questions existentielles, gonflage de moral, humour absurde et autres festivités. Chacun, à sa manière, a concrètement contribué à ce travail. Merci !

Je remercie très sincèrement, tous les chercheurs et enseignants-chercheurs du laboratoire, Aline, Yoon, Nicole, Jacques, Xavier, Jean-Louis, Tom, Messieurs Cazala et Galey et bien d'autres plus récemment arrivés au labo, qui m'ont toujours accordé leur temps ou leur soutien quand j'en ai eu besoin : conseils méthodologiques ou statistiques, riches discussions scientifiques, bibliographie, corrections d'anglais et bonnes blagues m'ont toujours été donnés sans compter.

A Dominique, Madame Roy, Claudie, Laurence et Laurence, Cédric, Thierry et Eric, un grand merci pour la liste suivante, non exhaustive et dans le désordre : l'indispensable et efficace aide technique, la gestion des formalités administratives, une incroyable patience à mon égard, des qualités artistiques et un talent pour la décoration d'intérieur indéniables, les calculs de dilutions, les post-it, la résolution des bugs, les croissants, le soutien moral et les franches rigolades.

Une pensée émue et reconnaissante à chacune des héroïnes malheureuses de cette aventure : mes petites souris.

Merci à Serge et Hervé, pour la précieuse aide technique au moment crucial de l'impression de ce travail.

Merci à mes amis d'être mes amis.

Merci à mes parents et à Lorène qui ne doutent absolument jamais de moi.

Merci à Arnaud d'exister.....



# Résumé

L'objectif général de notre travail était de caractériser les effets du stress sur les processus de restitution mnésique chez la souris normale ou alcoolisée. L'approche devait être intégrée et permettre d'accéder à des paramètres comportementaux, physiologiques et neurobiologiques.

Dans un premier temps, nous avons élaboré et développé une épreuve originale (Discriminations Spatiales Contextuelles Sérielles, DSCS), permettant d'objectiver, au niveau comportemental, l'interaction entre stress et restitution mnésique chez l'animal normal. L'épreuve de DSCS est basée sur la recherche d'un agent renforçant alimentaire et se déroule dans une boîte à quatre trous. L'animal réalise l'apprentissage de deux discriminations spatiales successives, chacune d'elle se déroulant dans un contexte spécifique (plancher blanc et rugueux ou plancher noir et lisse). Après un délai de rétention variable (5 mn ou 24 h), l'animal effectue l'essai de rétention qui peut être précédé ou non d'un stress (application de chocs électriques aux pattes, dans une pièce totalement différente de celle où a lieu la tâche mnésique). Lors de l'essai de rétention, l'animal est soumis à l'une ou l'autre des deux discriminations acquises, aucun trou ne contient d'agent renforçant alimentaire. Nous mesurons l'exploration relative des différents trous. Les données recueillies chez l'animal normal indiquent que cette épreuve regroupe un certain nombre de caractéristiques (sensibilité au délai de rétention, sensibilité à la charge d'informations, sensibilité à l'interférence, restitution en fonction de l'ordre sériel, dépendance au contexte...) qui font d'elle un test pertinent pour l'étude des processus mnésiques. Par ailleurs, nous avons montré que le stress, appliqué juste avant l'essai de rétention et pourvu d'un effet anxiogène dans le labyrinthe en croix surélevé, peut moduler le rappel du souvenir dans l'épreuve de DSCS,

indépendamment des phases acquisition et de la consolidation. L'effet modulateur du stress sur la restitution est « contexte-dépendant ». Finalement, nos données semblent indiquer que les animaux normaux réalisent l'apprentissage des localisations spatiales en les indexant avec leurs attributs contextuels et temporels. Ainsi, les différents attributs de l'information s'influencent mutuellement lors de la restitution et le stress module le « poids » relatif des éléments contextuels ou temporels dans la réalisation de la tâche.

Parallèlement à l'approche comportementale, nous avons entrepris une étude endocrinienne par dosage de la corticostérone plasmatique ainsi qu'une étude d'imagerie cérébrale, par marquage immunohistochimique de la protéine Fos, toujours chez l'animal normal. Ces deux études avaient pour objectifs, d'une part, de caractériser la réponse hormonale induite par le stress, et d'autre part, d'identifier certaines des structures cérébrales impliquées dans la résolution de la tâche mnésique et modulées par le stress.

L'étude endocrinienne montre que le stress induit une forte activation de l'axe corticotrope, aboutissant à une libération massive de glucocorticoïdes dans la circulation générale. D'un point de vue cinétique, cette activation hormonale est concomitante des effets comportementaux du stress sur la restitution mnésique, suggérant que la réponse endocrinienne, et plus précisément la corticostérone, pourrait être responsable des effets comportementaux observés. L'étude d'imagerie cérébrale indique que l'épreuve de DSCS recrute des structures (Région hippocampique, Cortex rhinal, Cortex préfrontal, Thalamus médiodorsal, Corps mamillaires) connues pour leur implication dans la fonction mnésique. Le stress module l'activité de structures comme le Thalamus médiodorsal, l'Amygdale et le Noyau paraventriculaire de l'hypothalamus, trois régions cérébrales classiquement impliquées dans les processus émotionnels.

A l'issue de cette première série d'expériences, nous avons formulé l'hypothèse selon laquelle l'activation de l'axe corticotrope, et plus particulièrement l'augmentation de la concentration de corticostérone plasmatique chez les animaux stressés, serait en partie responsable des effets comportementaux observés. Afin d'éprouver cette hypothèse, nous avons inhibé la réponse hormonale induite par le stress par administration de metyrapone, molécule inhibant spécifiquement la synthèse de corticostérone. Nous avons ainsi mis en évidence une implication des glucocorticoïdes dans la modulation des processus de restitution par le stress, indépendamment de l'acquisition et la consolidation. Cette modulation concerne plus particulièrement la restitution de la 2<sup>ème</sup> information mais n'affecte pas ou peu la restitution de la 1<sup>ère</sup> information. Les effets des glucocorticoïdes sont rapides et s'exerceraient plutôt par le biais de récepteurs membranaires induisant une réponse rapide, que par l'intermédiaire de récepteurs nucléaires induisant une réponse génomique beaucoup plus lente. Les effets des glucocorticoïdes sur la restitution sont complexes puisqu'ils produisent des effets opposés (amélioration ou perturbation) et de nature psychologique différente (modulation des réponses fausses ou interférentes) selon le type d'information et le type de stress. Ces données suggèrent que les glucocorticoïdes ne sont certainement pas les seules molécules en cause et que le stress affecte la restitution selon des processus très complexes dont les glucocorticoïdes ne sont qu'un maillon. L'étude pharmacologique portant sur les effets comportementaux de l'administration d'agents pharmacologiques tels que la  $\beta$ CCM, agoniste inverse des récepteurs GABA/BDZ, ou la physostigmine, antiestérasique, montre que les transmissions gabaergiques et cholinergiques interviennent également dans la modulation des processus de restitution mnésique. A l'inverse des glucocorticoïdes, les systèmes gabaergiques et cholinergiques semblent être plus particulièrement impliqués

dans la modulation de la restitution de la 1<sup>ère</sup> information mais n'affectent pas ou peu la restitution de la 2<sup>ème</sup> information. Cette modulation s'exerce par le biais de modifications du taux de réponses interférentes.

Les données précédentes, obtenues chez l'animal normal, fournissent un ensemble de résultats comportementaux, endocriniens, neurobiologiques et pharmacologiques intégrés et cohérents avec nos connaissances actuelles sur le stress et ses interactions avec la mémoire (portant essentiellement sur l'interaction avec les processus d'acquisition, de stockage et de consolidation des informations). A l'issue de ces travaux, nous disposons donc d'un modèle valide permettant d'étudier l'effet du stress spécifiquement sur la phase de restitution mnésique.

Les animaux alcoolisés ainsi que leurs témoins du même âge (animaux âgés) ont été soumis à l'épreuve de DSCS selon le protocole décrit précédemment. Nous avons ainsi montré que les animaux âgés et alcoolisés présentent des déficits mnésiques par rapport aux jeunes et que ces perturbations sont différentes pour les deux groupes d'animaux. En effet, nos résultats montrent que les animaux âgés présentent un déficit d'acquisition et/ou de traitement et/ou de restitution des éléments contextuels puisque l'effet contexte-dépendant du stress, observé chez les animaux jeunes, n'existe plus. L'absence d'effet du stress chez les animaux âgés pourrait également être le signe d'un dysfonctionnement de l'axe corticotrope surajouté aux déficits mnésiques. Les animaux alcoolisés, en revanche, ne présentent pas le même déficit et répondent aux attributs contextuels de façon comparable, voire accrue, par rapport aux animaux jeunes. Il semble donc que l'alcoolisation chronique préserve de l'effet délétère du vieillissement concernant le traitement de l'information contextuelle. Cependant, bien qu'ils réalisent l'apprentissage des éléments

contextuels, les animaux alcoolisés ne semblent pas capables d'indexer les attributs contextuels à l'ordre sériel comme le font les animaux jeunes. Ils présentent une « perturbation » mnésique par rapport aux jeunes, se manifestant par une absence d'interférence rétroactive (l'information récente, facilitée par la variation contextuelle, n'influence pas l'information plus ancienne). Les animaux alcoolisés répondent alors en se basant uniquement sur les éléments contextuels propres à chacune des deux discriminations. Pour ce groupe d'animaux, les informations d'ordre sériel ne sont pas mises en relation avec les attributs spatiaux et contextuels des informations, et il n'existe pas d'influences mutuelles. Les animaux âgés, quant à eux ne se réfèrent ni aux informations contextuelles, ni aux informations d'ordre sériel et utilisent uniquement les informations spatiales c'est à dire les éléments stables et invariants de l'expérience.

L'étude d'imagerie cérébrale par l'analyse de l'expression de la protéine Fos révèle que les animaux âgés présentent un affaissement généralisé de l'activation cérébrale qui peut être attribué soit à un ralentissement de la cinétique d'activation soit à une baisse quantitative d'activation. Ces données semblent appuyer l'hypothèse classique selon laquelle le vieillissement s'accompagne d'une perte de la plasticité cérébrale qui serait en cause dans le déclin cognitif et la perte de flexibilité. L'alcoolisation chronique épargne l'activité de certaines structures comme l'hippocampe ou le thalamus médiodorsal par rapport aux animaux âgés. La préservation de l'activation de ces structures pourrait expliquer la moindre « gravité » du déficit mnésique des animaux alcoolisés par rapport aux animaux âgés. En outre, les animaux alcoolisés présentent un dysfonctionnement de la voie hippocampo-thalamo-mamillaire qui pourrait être responsable, sur le plan comportemental, de leur incapacité à relier les informations contextuelles aux informations d'ordre sériel.

# SOMMAIRE

<b>CHAPITRE I: Introduction générale</b> .....	<b>1</b>
I. LES EMOTIONS.....	3
A. La théorie de James-Lange .....	3
B. La théorie de Cannon-Bard.....	4
C. La théorie de Schachter.....	5
II. SYSTEME NERVEUX ET SYSTEME HORMONAL .....	6
A. Le système nerveux.....	6
B. Le système hormonal ou endocrine.....	7
III. LE STRESS.....	8
A. Les agents stressants .....	9
B. Compléxité de la réponse au stress .....	10
C. Le syndrome général d'adaptation.....	10
D. Mécanismes d'action des Glucocorticoïdes .....	14
IV. LA MEMOIRE .....	14
A. Les systèmes de mémoire chez l'homme.....	16
B. Les systèmes de mémoire chez l'animal.....	22
C. Les processus mnésiques .....	25
V. LES TROUBLES DE MEMOIRE CHEZ LES SUJETS KORSAKOFF .....	26
A. Données psychologiques.....	26
B. Données neurobiologiques.....	31
VI. RELATION ENTRE STRESS ET MEMOIRE.....	32
VII. OBJECTIFS DE LA THESE.....	34
<b>CHAPITRE II : Méthodologie Générale</b> .....	<b>37</b>
I. LES SUJETS EXPERIMENTAUX.....	38
A. Les animaux .....	38
B. Conditions d'élevage.....	38
C. Privation alimentaire.....	39



II. EPREUVES COMPORTEMENTALES.....	39
A. Réponse Emotionnelle Conditionnée.....	39
B. Discriminations Spatiales Contextuelles Sérielles (DSCS) .....	41
C. Evaluation de la réactivité émotionnelle .....	44
III. TRAITEMENTS UTILISES.....	47
A. Procédure d'alcoolisation chronique.....	47
B. Technique lésionnelle.....	47
C. Etudes pharmacologiques.....	49
IV. CONTROLE HISTOLOGIQUE .....	50
V. ETUDES IMMUNOHISTOCHIMIQUES .....	52
A. Les gènes précoces.....	52
B. Marquage immunohistochimique.....	54
VI. DOSAGE DE LA CORTICOSTERONE PLASMATIQUE.....	57
A. Principe.....	58
B. procédure expérimentale .....	58
VII. ANALYSES STATISTIQUES .....	59
<b>CHAPITRE III: Réponse Emotionnelle Conditionnée .....</b>	<b>60</b>
INTRODUCTION.....	61
I. PROCEDURE EXPERIMENTALE.....	63
A. Protocole.....	63
B. Constitution des groupes expérimentaux .....	65
II. RESULTATS.....	66
A. Contrôles histologiques .....	66
B. Résultats comportementaux .....	67
1. Effets de l'alcoolisation chronique sur la REC.....	67
2. Effets des lésions thalamique, hippocampique et mamillaire sur la REC .....	71
3. Effets de l'âge sur la réponse émotionnelle conditionnée.....	76
III DISCUSSION .....	80

## **CHAPITRE IV : Etude de l'interaction entre stress et restitution mnésique. .... 86**

INTRODUCTION .....	87
I - ETUDE COMPORTEMENTALE.....	89
A. 1 <sup>ère</sup> expérience : discrimination spatiale sans interférence.....	90
B. 2 <sup>ème</sup> expérience: discriminations spatiales sérielles (DSCS).....	94
C. Conclusion sur le modèle comportemental .....	112
III. ETUDE NEUROBIOLOGIQUE .....	119
A. Effets du choc en fonction de la charge mnésique sur l'expression de Fos.....	122
B. Effets du choc en fonction du type d'interférence sur l'expression de Fos.....	125
III. ETUDE ENDOCRINIENNE .....	128
A. Etude du décours temporel de la sécrétion de corticostérone induite par le choc ....	130
B. Etude de l'état d'activation de l'axe corticotrope dans l'épreuve de DSCS .....	132
IV. DISCUSSION.....	134

## **CHAPITRE V: Validation pharmacologique de l'épreuve de DSCS ..... 147**

INTRODUCTION .....	148
I. EFFET DE L'INJECTION DE $\beta$ CCM SUR LA RESTITUTION DANS L'EPREUVE DE DSCS.....	152
A. Procédure expérimentale .....	152
B. Résultats .....	153
II. EFFET DE L'INJECTION DE PHYSOSTIGMINE SUR LA RESTITUTION DANS L'EPREUVE DE DSCS .	159
A. Procédure expérimentale .....	159
B. Résultats .....	159
III. EFFET DE L'INJECTION DE METHYRAPONE SUR LA RESTITUTION DANS L'EPREUVE DE DSCS .	164
A. Procédure expérimentale .....	165
B. Résultats .....	166
IV. DISCUSSION.....	174
A. « Effet piqûre » .....	174
B. Effets de la $\beta$ CCM et de la Physostigmine sur la restitution.....	176
C. Effet de la Métyrapone sur la restitution .....	178

<b><u>CHAPITRE VI</u> : Stress, alcoolisation chronique et restitution mnésique (DSCS) .....</b>	<b>188</b>
INTRODUCTION .....	189
I ETUDE COMPORTEMENTALE.....	190
A. Effets de l'alcoolisation.....	191
B. Effets de l'âge .....	198
C. Conclusion des résultats comportementaux .....	202
II. ETUDE IMMUNOHISTOCHIMIQUE .....	218
A. Procédure expérimentale .....	218
B. Résultats .....	219
III DISCUSSION .....	223
<b><u>CHAPITRE VII</u>: Discussion générale .....</b>	<b>228</b>
I. SYNTHÈSE ET DISCUSSIONS.....	229
II. PERSPECTIVES.....	238
<b><u>BIBLIOGRAPHIE</u> .....</b>	<b>240</b>
<b><u>ANNEXES</u> .....</b>	<b>261</b>
<b><u>Annexe 1</u>: Pertinence du modèle animal d'alcoolisation chronique.....</b>	<b>262</b>
I. PROTOCOLE EXPERIMENTAL .....	265
II. RESULTATS .....	266
A. Etude du poids des animaux.....	266
B. Etude de la quantité totale de liquide absorbée .....	266
C. Etude de la consommation d'alcool .....	268
III. DISCUSSION .....	270
<b><u>Annexe 2</u>: Le paradoxe du noyau paraventriculaire de l'hypothalamus .....</b>	<b>273</b>
I. PROCEDURE EXPERIMENTALE ET CONSTITUTION DES GROUPES.....	274
A. Protocole expérimental.....	274
B. Constitution des groupes expérimentaux .....	275
II. RESULTATS .....	275
III. DISCUSSION .....	276

# Chapitre I

## INTRODUCTION

Les études portant sur l'amnésie d'origine alcoolique ou liée au vieillissement, comme l'étude de troubles de la mémoire consécutifs à des lésions cérébrales, révèlent que l'atteinte de la mémoire est rarement isolée et sélective, mais qu'elle s'accompagne souvent de troubles comportementaux et neuropsychologiques plus larges, voire de troubles émotionnels (anxiété, dépression...). Pour certains, les troubles émotionnels pourraient résulter des dysfonctionnements cognitifs ; à l'inverse, pour d'autres, les troubles émotionnels pourraient être responsables des déficits cognitifs et comportementaux. Par exemple, les sujets anxieux ont tendance à sélectionner dans l'environnement les stimuli anxiogènes, ce qui accroît leur anxiété et donc leur inadaptation générale.

L'étude des relations entre la mémoire et les « émotions » fait l'objet d'un nombre croissant de travaux, et notre thèse s'inscrit dans cette perspective. En effet, des travaux réalisés au laboratoire montrent que l'amnésie de restitution induite par l'alcoolisation chronique chez la souris est supprimée par une modification contextuelle (induisant des réactions émotionnelles vives) (Béracochéa et al, 1987) ou par l'injection de molécules à potentiel anxiogène, interagissant avec le système GABA/BDZ (Borde et al, 1996). Par ailleurs, certaines études réalisées chez l'homme ou sur l'animal de laboratoire montrent que le stress ou l'anxiété modulent la mémoire, même si à ce jour l'impact du facteur émotionnel sur la restitution mnésique n'est que peu étudié. Toutefois, avant d'évoquer les travaux montrant l'existence de cette interaction, et les objectifs précis de notre thèse, un rappel succinct des principales théories sur l'émotion, le stress et la mémoire s'impose.

## I. LES EMOTIONS

Le monde des émotions est un monde complexe : il comporte un large éventail de comportements observables, de sentiments exprimés et de changements d'états corporels. Ces différents sens du mot « émotion » ont rendu le sujet difficile à analyser. Pour beaucoup d'entre nous, les émotions sont des états très personnels, difficiles à définir ou à identifier, sauf dans les cas les plus évidents. De plus, de nombreux aspects des émotions nous sont inconscients et même les états émotionnels les plus simples sont bien plus complexes que des conditions telles que la faim ou la soif. Le problème est encore plus délicat quand il s'agit de décrire les émotions chez les animaux. De plus, le rapport entre les fonctions cognitives et les émotions constitue à l'heure actuelle l'un des thèmes les plus controversés de la psychologie.

Dans de nombreux états émotifs, nous ressentons certains bouleversements internes caractéristiques tels que l'accélération des battements du cœur, chaleurs, sueurs froides, moiteur, nausées...Plusieurs théories ont tenté d'expliquer les liens très étroits qui existent entre le phénomène psychologique subjectif et l'activité des organes viscéraux contrôlés par le système nerveux autonome. Ces théories ont tenté de déterminer si nous pouvons éprouver des émotions en l'absence d'activations des organes viscéraux. Parmi les nombreuses théories sur l'émotion, certaines se focalisent sur les phénomènes se produisant à la périphérie du corps, d'autres s'intéressent davantage aux processus cérébraux et d'autres enfin tentent d'intégrer ces deux sortes d'événements.

### **A. LA THEORIE DE JAMES-LANGE**

Psychologue Américain du début du 20<sup>ème</sup> siècle, Williams James a suggéré que les émotions étaient les perceptions des changements corporels provoqués par des stimuli particuliers. Dans cette perspective, la peur par exemple se

manifeste parce que des stimuli spécifiques produisent des changements particuliers dans la physiologie corporelle, et que ce sont ces changements là qui constituent l'émotion. Carl Lange a proposé une explication similaire en 1887 : « *Nous devons tout l'aspect émotionnel de notre vie mentale, nos joies, nos peines, nos moments heureux et malheureux, à notre système vaso-moteur...* ». Ainsi, la théorie de James-Lange insiste sur le rôle des événements physiologiques périphériques dans l'émotion. Elle est à l'origine de nombreuses études qui tentent de relier les émotions aux réponses corporelles, et ce domaine reste d'actualité. Cependant, bien qu'elle soit un précurseur dans le domaine, cette théorie n'a pas résisté aux critiques.

### **B. LA THEORIE DE CANNON-BARD**

Les physiologistes Walter Cannon et Philip Bard, notamment ont sérieusement critiqué la théorie précédente . En effet, si comme le postule la théorie James-Lange, les états corporels sont des émotions, alors, les changements provoqués dans le corps par des traitements expérimentaux (chirurgie, prise de drogues ou pathologie) devraient modifier les émotions, or ce n'est pas ce que ces auteurs observent. Ainsi, l'activation d'un système physiologique ne suffit pas à provoquer une émotion par elle même. De même , si la théorie de James-Lange est vraie, alors des émotions différentes devraient être représentées par des réactions corporelles différentes ; là encore, ce n'est pas ce que Cannon a observé puisqu'il a constaté que les même changements viscéraux pouvaient se produire pour des émotions différentes et que selon le contexte, ces modifications viscérales pouvaient avoir des conséquences émotionnelles différentes.

La théorie de Cannon insiste sur l'intégration cérébrale de l'expérience émotionnelle et de la réaction émotive. Ayant noté que les états émotionnels

entraînaient une dépense d'énergie considérable, Cannon, en 1929, a souligné que certaines émotions constituaient la réaction d'urgence d'un organisme mis en présence d'une situation menaçante soudaine. Selon lui, cette réaction produit une activation maximale de la composante sympathique du système nerveux autonome. Ainsi, les émotions produisent des changements dans le corps, tels que l'accélération du rythme cardiaque, une mobilisation du glucose, ainsi que de nombreux autres effets contrôlés par le système sympathique autonome. D'après cette théorie, les viscères seraient stimulées par le système sympathique, car les stimuli émotionnels excitent le cortex cérébral, qui, à son tour, supprime l'inhibition des mécanismes de contrôle du thalamus. L'activation du thalamus qui en résulte produit alors une activation corticale qui provoque une expérience émotionnelle et active le système nerveux autonome. La théorie de Cannon a suscité de nombreuses études sur les effets des lésions et des stimulations électriques cérébrales sur l'émotion.

Ces deux positions contradictoires vont servir de cadre théorique à toutes les recherches actuelles concernant les relations émotion-cognition.

### **C. LA THEORIE DE SCHACHTER**

Un développement ultérieur du problème a été effectué par Stanley Schachter (1975) qui a montré l'importance des états cognitifs pour interpréter les stimuli et les états viscéraux. Cette étude, basée sur une approche expérimentale plus moderne, tentait de recréer des états émotionnels par injection intraveineuse d'adrénaline. L'auteur a alors suggéré que les individus interprètent l'activation viscérale en fonction des stimuli responsables de la situation environnante et de leur état cognitif. En conséquence, une émotion ne serait pas commandée inéluctablement par une activation physiologique, notamment par l'activation contrôlée par le système nerveux autonome. Les états



corporels seraient plutôt interprétés dans un contexte cognitif et modelés par l'expérience. Ainsi, selon Schachter, l'émotion ou la reconnaissance d'une émotion dépendrait de l'interprétation de la situation et cette interprétation serait contrôlée par des systèmes cognitifs internes. En d'autres termes, un état émotionnel résulterait de l'interaction entre une activation physiologique et une interprétation cognitive de cet éveil physiologique. Toutefois, selon ce point de vue, l'émotion ne dépendrait pas uniquement d'une interaction entre éveil et évaluation cognitive de cet éveil, mais également de la perception de l'existence d'une relation causale entre l'éveil physiologique et la connaissance émotive (Reisenzein, 1983).

L'activation physiologique repose sur le fonctionnement du système endocrinien et du système nerveux végétatif et l'évaluation cognitive dépend du fonctionnement du système nerveux central.

## **II. SYSTEME NERVEUX ET SYSTEME HORMONAL**

Les systèmes nerveux et endocrinien constituent les deux systèmes de contrôle essentiels de l'organisme, responsables de la surveillance de l'environnement externe et interne de l'individu et exécutant les changements adaptatifs appropriés. Ces deux systèmes contribuent ainsi à maintenir la constance du milieu intérieur (« l'homéostasie »; Claude Bernard), facteur fondamental de l'indépendance et de l'activité de l'organisme au regard des caractéristiques changeantes du milieu extérieur.

### **A. LE SYSTEME NERVEUX**

Le système nerveux de la vie de relation (système nerveux central et système nerveux végétatif) permet les relations avec l'extérieur. Les récepteurs périphériques reçoivent les stimuli provenant du milieu extérieur et les

transforment en « messages codés » qui parviennent aux centres. Le stimulus peut donner lieu à une réponse réflexe ou à une réponse volontaire. Le signal sensoriel pour le centre comme le signal moteur pour l'effecteur sont transmis par une chaîne de neurones connectés par des synapses. Le temps de latence est faible, de l'ordre de la milliseconde. Ce système nerveux permet l'adaptation de l'individu au milieu extérieur.

Le système nerveux de la vie végétative est caractérisé par des voies motrices qui constituent deux ensembles (orthosympathique et parasympathique) fonctionnant de façon couplée et parfois antagoniste. Il contrôle les grandes fonctions de l'organisme : digestion, respiration, circulation, sexualité et intervient dans la régulation de la température interne, de la pression artérielle, du rythme cardiaque...Ce système nerveux permet la coordination et la régulation du milieu intérieur.

### **B. LE SYSTEME HORMONAL OU ENDOCRINE**

Le système endocrine intervient dans le métabolisme des glucides, lipides et protides, dans la régulation de la température interne, de la glycémie, de la calcémie, de l'équilibre hydrominéral, dans la croissance, la sexualité, la réponse au stress et les activités cognitives. Les cellules endocrines déversent dans le sang les hormones qui vont agir à distance sur des cellules cibles. Leur délai d'action varie de quelques minutes à plusieurs heures.

En fait, le fonctionnement du système nerveux et du système hormonal est étroitement imbriqué. En particulier, ces deux systèmes contractent des relations étroites (relations neuro-humorales) au niveau de l'hypothalamus, qui constitue une véritable « plaque tournante » entre ces deux systèmes et entre milieu extérieur et milieu intérieur. Les cellules de l'hypothalamus se sont différenciées dans un sens à la fois nerveux et sécréteur qui leur permet de

répondre aussi bien à des stimuli nerveux (d'origine psychologique, sensorielle...) qu'hormonaux. Une agression endogène ou exogène constituant un état de stress mettra en jeu cette plaque tournante. En d'autres termes, le système hormonal et le système nerveux interagissent et produisent ainsi des réponses intégrées.

### **III. LE STRESS**

Le stress est souvent rendu responsable de nombreux problèmes physiques ou psychologiques. Chacun d'entre nous a déjà vécu l'expérience du stress et à pu noter son impact sur la mémoire. Ainsi, il peut arriver d'oublier une réunion importante ou une date d'anniversaire à cause d'une surcharge de travail, ou encore on peut garder un souvenir extrêmement vif d'un accident de voiture ou autre expérience stressante. Du fait de leur impact dans notre vie, nous sommes plus sensibles aux effets délétères du stress sur notre mémoire et nous avons tendance à oublier que dans certaines conditions, le stress peut avoir un effet positif sur notre santé physique et mentale puisque la réponse de stress est avant tout un processus adaptatif.

En général, les stimuli qui induisent une réponse de stress chez l'animal placent ce dernier dans une situation dans laquelle il ne peut avoir aucun contrôle sur son environnement (nage forcée, immobilisation, chocs électriques). Ces modèles s'intègrent plus dans les modèles de la dépression que de l'anxiété et montrent, à ce titre, une sensibilité élective aux drogues antidépressives (Stanford, 1996). Cependant, certains arguments neurobiologiques et comportementaux montrent que le stress environnemental provoque une mobilisation voire des modifications du complexe récepteur GABA/BDZ, connu pour intervenir dans l'anxiété plutôt que dans la dépression. Dans une situation de stress aigu, une modification rapide du complexe GABA/BDZ intervient et se traduit par une augmentation de l'affinité pour le GABA ou pour le flunitrazepam (agoniste) (Havoundjian et al,

1986) tout en provoquant une diminution de la densité de récepteurs aux benzodiazépines au niveau cortical (Biggio et al, 1987; Medina et al, 1983; Mennini et al, 1988), hippocampique (Medina et al, 1983) ainsi qu'au niveau du septum et de l'amygdale (Da Cunha et al, 1991). Les effets de stress prolongés sont plus inconstants (Braestrup et al, 1979) mais on retiendra cependant qu'un stress chronique de contention provoque une altération de la liaison du GABA au niveau cortical (Gruen et al, 1995).

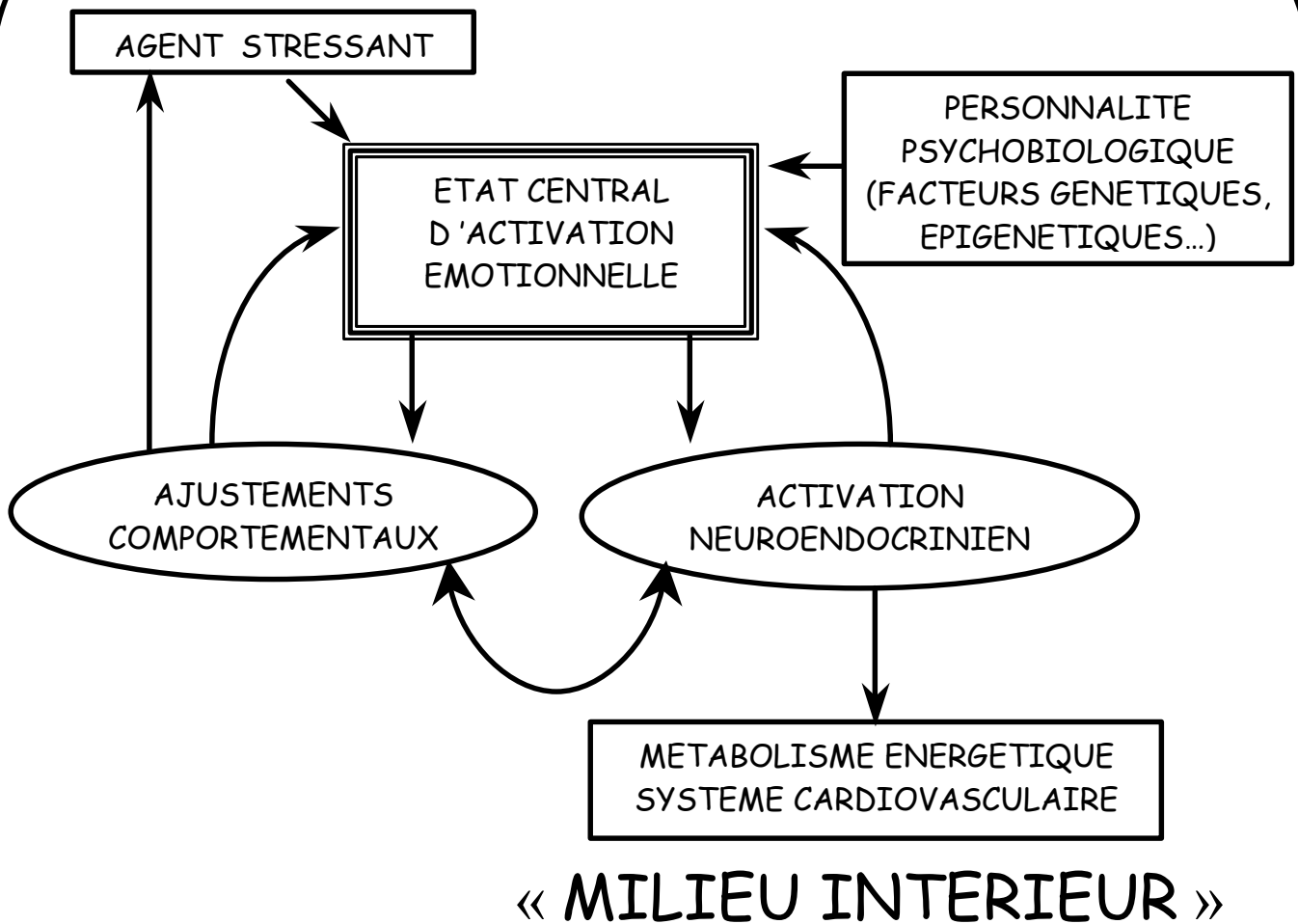
### **A. LES AGENTS STRESSANTS**

Cortex cérébral et système limbique sont stimulés lors des émotions. Ils sont reliés par des faisceaux nerveux à l'hypothalamus qui, comme vu précédemment, constitue un interface entre système nerveux et système endocrinien et déclenche, suite à l'application d'un agent stressant, la chaîne de réaction qui va constituer le syndrome général d'adaptation. Ainsi, l'application d'un agent stressant induit une activation émotionnelle indissociable d'une activation physiologique.

Les agents susceptibles de créer un état de stress sont multiples. Ils peuvent être de nature physique (blessures, brûlures...), sensorielle (faim, soif, chaud, froid, puanteur...), infectieuse (toxines bactériennes), toxique (venin), chirurgicale (anesthésie insuffisante ou excessive), hémorragique, psychoémotionnelle (émotion intense, deuil, divorce) ou socioprofessionnelle (hiérarchie, licenciement, harcèlement...).

En expérimentation animale, on peut utiliser différents agents stressants comme par exemple : le stress de contention (l'animal est bloqué dans un tube cylindrique), l'isolement, la nage forcée, les flashes lumineux, le bruit intense ou les chocs électriques aux pattes...

## COMPLEXITE DE LA REponse AU STRESS



### « MILIEU INTERIEUR »

Lors de la perception d'un stimulus stressant, l'individu effectue l'évaluation cognitive de l'expérience stressante. Cette évaluation cognitive dépend de la « personnalité psychobiologique » de l'individu. Cette personnalité est influencée par des déterminants phylogénétique, génétique et épigénétique (vécu, histoire, influences périnatales, mémoire), propres à chacun. Cette évaluation cognitive débouche sur une réponse comportementale et sur une réponse physiologique (notamment neuroendocrinienne). La réponse comportementale peut être la fuite, la défense ou la lutte. La réponse neuroendocrinienne permet la mobilisation des ressources énergétiques, l'augmentation du tonus cardiovasculaire et l'inhibition des fonctions non essentielles à la réponse immédiate au stress (digestion, reproduction, croissance, système immunitaire). Les réponses comportementale et physiologique s'influencent l'une l'autre, par exemple la fuite mettant l'individu hors de portée du stimulus stressant ramène l'activité neuroendocrinienne à un niveau de base. De même, les glucocorticoïdes sécrétés lors d'un stress mobilisent l'énergie nécessaire à la fuite ou au combat (fight or flight). Le but de toutes ces réponses adaptatives est de restaurer l'équilibre du milieu intérieur, bouleversé par le stressant.

Figure I.1 : Complexité de la réponse au stress

## **B. COMPLEXITE DE LA REPONSE AU STRESS**

La réponse de l'organisme au stress est complexe; nous avons essayé de représenter cette complexité dans la figure I.1.

Un même agent stressant peut agir différemment suivant les individus ou suivant le moment chez un même individu ce qui rend théoriquement nécessaire la prise en compte de la « personnalité » de l'individu ( prise en compte des déterminants génétiques, phylogénétiques, épigénétiques (influences périnatales, vécu), biologiques, neurobiologiques et psychologiques de chaque individu) dont l'importance est considérable dans le développement des maladies psychosomatiques.

## **C. LE SYNDROME GENERAL D'ADAPTATION**

Le syndrome général d'adaptation, au sens de Selye (1956), est l'ensemble des réactions de l'organisme à des stimuli très divers, non spécifiques (stresseurs ou agents stressants), mais dont le caractère nociceptif (au sens large) conduit à une perturbation de l'homéostasie. Le stress est l'ensemble complexe de ces stimuli et des réactions en principe non spécifiques auxquelles ils donnent naissance. Par commodités de langage, on utilise le mot stress pour désigner le stimulus stressant, la réponse physiologique à ce stimulus, la réponse comportementale à ce stimulus ou les 3 à la fois.

La stimulation de l'hypothalamus par un agent stressant déclenche le syndrome général d'adaptation qui évolue suivant deux et éventuellement trois stades :

### **1. la réaction d'alarme**

Le premier stade du syndrome général d'adaptation est la réaction d'alarme. Elle est à caractère plutôt nerveux, et traduit l'excitation du système nerveux sympathique (libération de noradrénaline) et de la médullosurrénale (libération

d'adrénaline et de noradrénaline). Les réactions qui caractérisent cette réaction d'alarme sont immédiates et de courtes durée (réponse de type phasique) :

- augmentation de la fréquence cardiaque et de l'intensité des contraction du muscle cardiaque qui entraîne une augmentation du débit cardiaque, permettant ainsi un apport plus rapide et plus important en substances nutritives (notamment glucose) nécessaires à l'organisme (et en particulier aux muscles) pour répondre à l'agression.
- facilitation de la distribution du sang au niveau du muscle, du cœur, des poumons et de l'encéphale par vaso-dilatation et réduction de la distribution du sang au niveau de la peau et des viscères par vaso-constriction.
- Accélération du rythme respiratoire et dilatation des bronches favorisant l'apport d'oxygène au cœur et l'élimination du  $CO_2$ .
- Contraction de la rate apportant à l'organisme une quantité supplémentaire de globules rouges et permettant ainsi une meilleure oxygénation du cœur et une restauration plus rapide après hémorragie.
- Stimulation de la glycogénolyse hépatique et musculaire, de la lipolyse et de l'utilisation du glucose par les tissus.
- Enfin, sous l'effet de la sécrétion d'adrénaline, l'individu ressent une anxiété qui stimule l'attention.

Au total, la réaction d'alarme, dans la plupart des cas, est une réponse physiologique favorable à l'adaptation de l'organisme au facteur stressant. Elle réduit les activités qui ne sont pas essentielles (digestive, urinaire, reproductive...) et stimule des processus qui concourent à faciliter l'éveil, la

En réponse à un stimulus stressant, l'organisme met en place des réactions adaptatives diverses et variées dont certaines sont spécifiques du stimulus. Cependant, la libération de glucocorticoïdes dans la circulation consécutive à la stimulation de l'axe corticotrope est une caractéristique non spécifique que l'on observe quel que soit le type de stress.

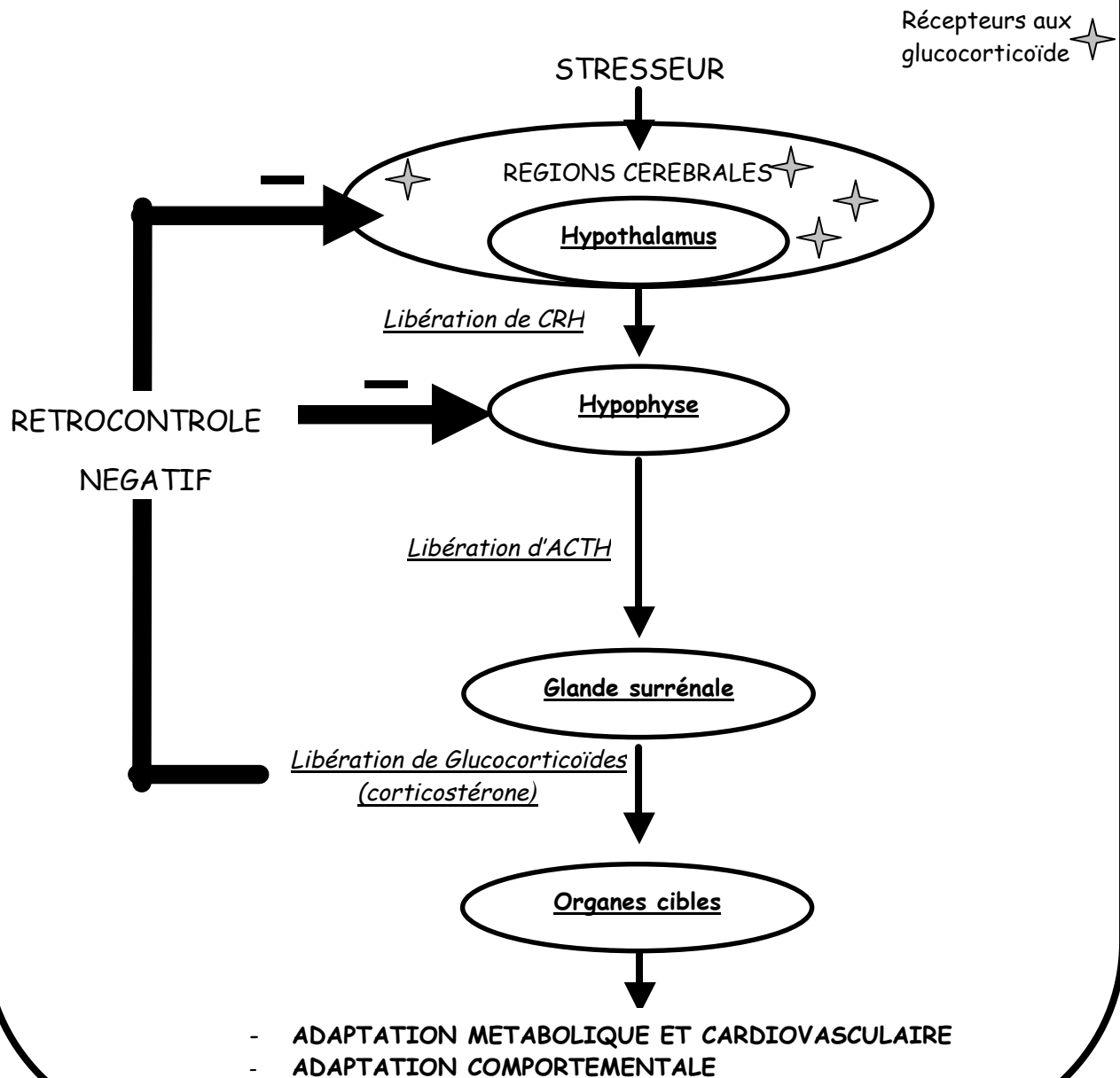


Figure I.2 : Activation de l'axe hypothalamo-hypophyso-cortico-surrénalien (ou axe corticotrope) consécutive à la perception d'un agent stressant.



condition nerveuse, l'adaptation hémodynamique immédiate et la mobilisation des stocks énergétiques d'utilisation rapide pour le cœur, le muscle et l'encéphale. Dans les conditions d'une vie naturelle, ces mécanismes permettront à un animal sauvage de répondre à un adversaire ou autre agent stressant par le combat ou par la fuite.

## 2. La phase de résistance

Le second stade du syndrome général d'adaptation est la phase de résistance. Elle est à caractère plutôt hormonal et met en jeu la libération de facteurs de décharge hypothalamiques, d'hormones hypophysaires et corticosurréaliennes. Ses effets sont moins précoces et moins rapides que ceux de la réaction d'alarme et sont plus ou moins durables (Cf. Figure I.2)

- La stimulation de l'hypothalamus entraîne la libération de peptides hypothalamiques comme la corticolibérine (CRH), et la vasopressine (AVP), responsable d'une vasoconstriction canalisant l'oxygène pour les muscles.
- Ces peptides hypothalamiques entraînent à leur tour, la libération hypophysaire de l'hormone corticotrope (ACTH), de prolactine et de nombreux peptides opiacés ( en partie responsables de l'analgésie induite par le stress).
- La décharge d'ACTH, caractéristique du stress, stimule essentiellement la libération d'hormones glucocorticoïdes (cortisol chez l'homme et corticostérone chez la souris) par la corticosurrénale. Ces hormones stimulent la néoglucogénèse permettant ainsi une reconstitution des réserves énergétiques. Elles réduisent les phénomènes inflammatoires mais dépriment le système immunitaire. Les glucocorticoïdes libérés à l'occasion d'un stress agissent également sur l'hippocampe, qui contient des

récepteurs à ces hormones, notamment dans le cas de stress chronique où on observe une diminution transitoire du nombre de ces récepteurs. Ce rétrocontrôle négatif limite l'amplitude de la réponse à l'agent stressant. Un autre résultat de l'action des glucocorticoïdes sur l'hippocampe est de moduler les capacités de mémorisation.

La durée de cette phase de résistance est fonction du stress et des capacités d'adaptation de l'organisme. En général, l'individu parvient à faire face à une agression et à ses conséquences et retrouve un état physiologique normal. En revanche, si les possibilités de l'organisme sont dépassées, il atteint le stade d'épuisement.

### **3. Phase d'épuisement**

Le troisième stade du syndrome général d'adaptation est la phase d'épuisement. Si l'individu subit une répétition chronique d'un agent stressant, il y a hyper-activation de l'axe corticotrope qui se traduit généralement par une augmentation de la taille de la surrénale, une involution du thymus responsable d'un affaiblissement du système immunitaire et par une ulcération de la muqueuse gastrique.

Lorsque les capacités sécrétoires en glucocorticoïdes sont épuisées, le taux de glucose s'abaisse, les cellules ne sont plus nourries convenablement et perdent de plus en plus de potassium. Cet effet retentit sur l'état physiologique du cœur, les vaisseaux, le rein... et la mort peut subvenir dans un état de collapsus général. Cet effet a également des répercussions sur l'état mental de l'individu et peut conduire à divers troubles émotionnels et comportementaux.

Dans ce cas de figure, le sujet n'a pas réussi à s'adapter, ses capacités d'ajustement biologique, neurobiologique et comportementale sont dépassées, il y

a désadaptation. Il bascule alors dans la pathologie et ne peut pas revenir à un état physiologique normal par ses propres ressources.

#### **D. MECANISMES D'ACTION DES GLUCOCORTICOÏDES**

Les glucocorticoïdes, dont la corticostérone, sont capables de modifier l'activité cérébrale et le comportement par l'intermédiaire de mécanismes génomiques classiques. Cet effet nucléaire, mettant en jeu la transcription de gènes et la synthèse protéique, implique une latence relativement longue entre l'exposition au stéroïdes et l'observation de la réponse.

Cependant, de plus en plus de données suggèrent que certaines réponses aux glucocorticoïdes mettent en jeu des mécanismes non-génomiques, dont les conséquences sont observables beaucoup plus rapidement, de l'ordre de quelques secondes à plusieurs minutes, latences incompatibles avec le mécanisme génomique classique (nous avons décrit plus précisément les mécanismes d'action non génomiques des glucocorticoïdes dans la discussion du Chapitre IV).

Ainsi, les stéroïdes, dont la corticostérone, exerceraient différents effets leur permettant de moduler un large éventail de fonctions à l'intérieur d'une vaste fenêtre temporelle allant de la microseconde à plusieurs jours.

### **IV. LA MEMOIRE**

A la question « qu'est ce que la mémoire ? » , de nombreuses réponses sont possibles, provenant de disciplines diverses et variées. Cette diversité de réponses illustre la complexité de la fonction mnésique, et préfigure les difficultés auxquelles va se heurter l'expérimentateur qui voudra l'étudier.

Pour les philosophes, la mémoire est la capacité d'évoquer à la conscience une expérience passée. Cette définition est un peu restrictive dans la mesure où elle néglige toutes les activités mnésiques inconscientes.

C'est Freud qui va élargir cette définition puisqu'en fonction de la plus ou moins grande facilité d'accès des souvenirs à la conscience, il définit trois entités : le conscient, le préconscient et l'inconscient et il place, dans l'inconscient également, des souvenirs qui dirigent des conduites.

D'un point de vue évolutionniste, la mémoire est un moyen d'adaptation de l'espèce aux changements rapides de l'environnement, au même titre que le système immunitaire; ainsi un individu est capable d'adapter un comportement en fonction d'une expérience passée. Cette capacité n'apparaît que chez les animaux pluricellulaires sous forme de sensibilisation et d'habituation puis se développe et se complexifie au fur et à mesure du développement du système nerveux.

Pour les biologistes, la mémoire est la capacité d'acquérir, de conserver, de restituer et utiliser une information ou un comportement. Cette définition, même si elle décrit les trois étapes fondamentales de la fonction mnésique, est très large et regroupe des phénomènes si différents qu'elle ne peut être retenue comme concept opératoire.

Les cognitivistes fournissent des modélisations de la mémoire qui distinguent des processus (encodage, stockage, restitution) et des systèmes. Même s'il existe plusieurs descriptions de ces systèmes de mémoire, ils ont en commun de dissocier une mémoire à court terme (qui ne retient les informations nécessaires à la réalisation d'une tâche que le temps de son exécution) et une mémoire à long terme (qui stocke les informations utiles pendant de longues durées). Les modèles diffèrent selon la description de ces 2 types de mémoire et selon les rapports qui existent entre elles : description horizontale de systèmes distincts

ou description verticale de systèmes emboîtés. Ces modèles reposent sur un fonctionnement séquentiel des processus cérébraux et décrivent les traces mnésiques comme des entités discrètes et localisables.

Les connexionnistes, quant à eux, réfutent l'existence de systèmes de mémoire et l'existence de traces mnésiques localisables. Pour eux, la trace mnésique est constituée par la modification du "poids" des connections synaptiques dans des réseaux neuronaux fonctionnant de façon parallèle et distribuée. Selon cette théorie, les différents systèmes décrits par les cognitivistes ne résulteraient que d'une mise en jeu différentielle des réseaux neuronaux selon la nature de la tâche mnésique à réaliser.

### **A. LES SYSTEMES DE MEMOIRE CHEZ L'HOMME**

Bien que l'existence de plusieurs systèmes de mémoire ait été pressentie assez précocement notamment par certains philosophes comme Bergson (1896) ou psychologues comme Tolman (1948), la mémoire a été considérée comme une fonction unitaire par la communauté scientifique jusqu'au milieu du 20ème siècle.

En 1957, l'étude du cas H.M.(Scoville et Milner, 1957) montre que la résection du bord interne des lobes temporaux (incluant la formation hippocampique), entraîne une amnésie antérograde sévère (incapacité à former de nouveaux souvenirs) ainsi qu'une amnésie rétrograde graduelle (les souvenirs suffisamment anciens sont préservés alors que des souvenirs plus récents sont supprimés). L'étude du syndrome amnésique de H.M permet de mettre à jour une dissociation entre des formes de mémoire atteintes par la lésion cérébrale et des formes de mémoire préservées.

C'est à partir de cette observation que se développe réellement la notion de polymorphisme de la mémoire. Par la suite, la recherche, chez l'homme comme

chez l'animal, consiste à étudier le "profil" spécifique des perturbations mnésiques produites par l'atteinte (lésions, traitements pharmacologiques...) de régions spécifiques du cerveau afin de caractériser des dissociations entre les catégories de mémoire perturbées et celles qui sont préservées voire améliorées. L'établissement de distinctions entre plusieurs formes de mémoire sur la base de dissociations demeure encore l'argument décisif en faveur de systèmes de mémoire multiples et est à l'origine de différentes classifications des systèmes de mémoire (Sherry et Schacter, 1987) dont nous résumerons brièvement les principales dans la partie suivante.

### **1. mémoire à court terme/mémoire à long terme**

L'un des premiers modèles structuraux de la mémoire a été proposé par Atkinson et Shiffrin en 1968 (cité dans Eustache, 1996), modèle dans lequel la mémoire peut être dissociée en trois composantes: un registre sensoriel dans lequel l'information sensorielle en provenance de l'extérieur transite brièvement jusqu'à un registre à court-terme, de capacité limitée, qui à son tour, transmet l'information à un registre à long-terme. Dans ce modèle en "série", le registre à court-terme joue un rôle essentiel puisque l'information ne peut atteindre le registre à long-terme si elle n'y a pas transité. Les registres à court et long-terme se distinguent par leur capacité de stockage et la durée pendant laquelle l'information y est conservée. Ainsi, le premier désigne l'ensemble des processus qui permettent de maintenir une information active pendant l'exécution d'une tâche ou d'une activité courante (par exemple, la lecture) (mémoire à court-terme). Pour sa part, le registre à long-terme se caractérise par la permanence de l'information stockée et concerne les faits, les connaissances et les habitudes accumulés au fil des années (mémoire à long-terme). Cette distinction entre deux systèmes de mémoire a été appuyée par de nombreux travaux expérimentaux et cliniques dont les plus convaincants ont été d'une part,

l'existence des phénomènes de primauté et de récence, et d'autre part, la dichotomie décrite par Milner (1959, cité dans Eustache, 1996) chez le sujet H.M. entre une mémoire à long-terme gravement perturbée, et une préservation de la mémoire à court-terme, après la résection des lobes temporaux.

Néanmoins, la dissociation inverse, à savoir, une perturbation de la mémoire à court-terme mais non de la mémoire à long-terme, décrite par Warrington et Shallice (1969) chez le sujet K.F., remet en cause ce modèle dual (entre autres critiques) qui est amélioré et "complexifié" par Baddeley et Hitch (Baddeley, 1996). Ces auteurs proposent que l'unité de stockage à court-terme pourrait être constituée de multiples composants et fonctionnerait comme une mémoire de travail. Cette mémoire de travail permet de retenir des informations de natures variées, pendant de courtes périodes de temps; elle est impliquée de façon critique dans l'accomplissement de tâches cognitives complexes comme la résolution de problèmes et la lecture, elle est donc nécessaire à la continuité d'une activité. La dissociation court/long terme est pertinente ne serait ce que pour aborder les mécanismes d'évolution des souvenirs au cours du temps. Ainsi, la mémoire d'un événement évolue d'un état fragile initial, et donc facilement perturbable (mémoire à court-terme) à un état progressivement stable et définitif (mémoire à long-terme). La perturbation de la consolidation de la trace mnésique (obtenue après un apprentissage) peut entraîner sa disparition et provoque une amnésie rétrograde (oubli des événements qui se sont produits avant le traitement amnésiant montrant ainsi qu'ils n'ont pas été consolidés en mémoire à long-terme). Si le traitement amnésiant survient avant l'apprentissage, il provoque une amnésie antérograde, ou en d'autres termes, un oubli au fur et à mesure des événements.

## 2. Mémoire déclarative/Mémoire non déclarative

En 1980, Cohen et Squire introduisent la notion de mémoire déclarative et mémoire procédurale. La mémoire procédurale, non accessible à la conscience permet l'acquisition progressive d'habiletés motrices, grâce à l'entraînement. Elle s'oppose à la mémoire déclarative, verbalisable et accessible à la conscience, dont le contenu est constitué d'un ensemble de connaissances générales ou personnelles. Cette dichotomie repose sur l'observation de patients amnésiques qui présentent des troubles de mémoire impliquant le système déclaratif, alors que la mémoire relevant du système procédural est relativement préservée. Ainsi, un sujet amnésique peut se souvenir d'un apprentissage sensori-moteur (procédural) sans avoir conscience des circonstances spécifiques (mémoire déclarative) de cet apprentissage (par exemple, l'expérimentateur avec lequel il a appris l'épreuve, le lieu d'expérience...). Ce modèle a depuis été transformé et Squire différencie actuellement la mémoire déclarative et la mémoire non déclarative, laquelle comprend en plus de la mémoire procédurale, toutes les capacités par lesquelles l'expérience modifie le comportement de façon non consciente, sans permettre l'accès à aucun contenu mnésique (Squire, 1996).

Le système de mémoire déclaratif (Zola-Morgan et Squire, 1993 ;Milner et al, 1998) recoupe deux formes de mémoire très différentes, la mémoire épisodique (celle des événements possédant des attributs temporels et spatiaux bien définis) et la mémoire sémantique, celle des événements ayant été (par le biais de la fréquence de présentation, de la répétition,...) catégorisés ou abstraits, sans référence particulière à des attributs contextuels et spatiaux spécifiques (l'information est " décontextualisée "). Ainsi, la mémoire sémantique permettrait l'acquisition et la rétention de connaissances générales alors que la mémoire épisodique, autobiographique, stockerait les événements personnels indexés dans leur contexte spatial, temporel et émotionnel. Cette dichotomie



entre mémoire épisodique et mémoire sémantique, initialement proposée par Tulving (cité dans Eustache, 1996) en 1972 découle de l'observation de sujets amnésiques incapables de restituer les expériences personnelles passées tout en étant capables d'acquérir des connaissances nouvelles.

Même si ces deux formes de mémoire déclarative (mémoire épisodique et mémoire sémantique) représentent des entités cognitives différentes, elles interagissent de façon permanente, ce qui rend d'ailleurs difficile l'association de l'une ou l'autre forme de mémoire avec un circuit anatomique ou un substrat neurobiologique particulier. Selon Fuster (1995), en terme neurobiologique, ces deux formes de mémoire reposeraient sur l'activité d'ensembles (ou réseaux) corticaux communs, bien que certaines parties puissent être différenciellement impliquées, qui refléterait différents niveaux d'élaboration hiérarchique (en terme de connectivité et de convergence) du traitement de l'information et de ses attributs. Néanmoins, pour certains auteurs (Milner et al,1998), le système déclaratif impliquerait essentiellement l'hippocampe et le diencephale.

Le second système de mémoire est le système non déclaratif qui recouvre les opérations impliquées dans l'acquisition et la conservation de savoir-faire ou de praxies, principalement sensori-motrices (mais non exclusivement, d'où le terme " non déclaratif ", plus large que " procédural "). L'intérêt porté à ce système de mémoire provient surtout de l'étude du phénomène d'amorçage (ou « priming ») qui désigne la facilitation de la reconnaissance d'un stimulus (généralement un mot) par la pré-exposition préalable (amorçage ) à un autre stimulus partageant des éléments communs ou associés (sens du mot, ou attributs de forme, de couleur..) avec le mot à reconnaître. Dans la mesure où l'amorçage peut améliorer des apprentissages perceptivo-moteurs, il a été assimilé tout d'abord à une forme de mémoire procédurale (Squire, 1987). Cependant, pour certains auteurs, les éléments non conscients ou non explicites lors de la perception du stimulus (le

stimulus d'amorçage ou le matériel à retenir) seraient indexés à des connaissances pré-existantes communes, qui relèvent quant à elles du système déclaratif. Pour ces raisons, Squire et Zola-Morgan ont classé le phénomène d'amorçage non plus dans la mémoire procédurale, mais l'ont maintenu dans la mémoire implicite ou non déclarative (Squire et Zola-Morgan, 1988). Pour Squire et Zola-Morgan, le système non déclaratif serait surtout dépendant de structures cérébrales situées ailleurs que dans les lobes temporaux médians ou le diencephale (Milner et al,1998)

### **3.Mémoire implicite/Mémoire explicite**

Selon Schacter (1987), les termes implicite et explicite font référence aux deux manières différentes utilisées par l'organisme pour exprimer un souvenir. Si la récupération d'une information préalablement acquise est consciente et volontaire alors on parle de « mémoire explicite ». Au contraire, si la récupération est non consciente et involontaire alors on utilise le terme « implicite ». Le caractère conscient ou inconscient du rappel peut être commun à plusieurs systèmes mnésiques distincts.

Pour Tulving (1995), les termes d'explicite et d'implicite font également référence aux processus de récupération des informations, mais aussi au contenu de la mémoire sollicitée. Ainsi implicite désigne l'expression d'une information stockée sans conscience de ses attributs spatio-temporels au moment de l'acquisition (comment, quand et où) et concerne la mémoire procédurale et sémantique. La mémoire explicite renverrait au contraire, à l'expression du souvenir conscient du sujet comme c'est le cas pour les informations utilisées en mémoire à court-terme (ou mémoire de travail) et en mémoire épisodique.

Selon Squire, la mémoire déclarative (sémantique et épisodique) est synonyme de mémoire explicite alors que la mémoire implicite est équivalente à mémoire

non-déclarative. A la différence de la définition de Tulving, la dissociation explicite/implicite ne repose pas sur le contenu de la mémoire (conscient ou inconscient) mais uniquement sur le mode selon lequel l'information est récupérée. Ainsi, la mémoire explicite concerne la récupération consciente et intentionnelle des informations (rappel libre, rappel indicé et reconnaissance). En revanche, la mémoire implicite est mise en jeu lorsqu'une expérience préalable facilite la performance dans une tâche qui ne requiert pas la récupération consciente et volontaire de ces expériences (amorçage).

### **B. LES SYSTEMES DE MEMOIRE CHEZ L'ANIMAL.**

Des études ont été réalisées chez l'animal pour mieux définir les bases neuroanatomiques de la mémoire, par le biais d'épreuves comportementales mettant en jeu la dichotomie des systèmes de mémoire observée chez l'homme. Ces études se sont heurtées à certaines difficultés. Tout d'abord, comment appréhender la mémoire déclarative chez l'animal, définie sur la base de la récupération consciente des souvenirs, et verbalisable ? Ensuite, sur le plan neurobiologique, la mémoire "déclarative" a été surtout assimilée au fonctionnement d'une structure, l'hippocampe. Or, si on considère les déficits observés dans les épreuves de non appariement chez l'animal porteurs de lésions circonscrites à l'hippocampe, les déficits sont minimes, transitoires voire inexistantes. De même, Jarrard (1993) observe des déficits chez des rats hippocampiques dans des épreuves spatiales, mais la reconnaissance d'objet, les discriminations concurrentes et autres épreuves mettant en jeu l'équivalent chez l'animal de la mémoire épisodique (mémoire de travail) ne sont pas touchées (Davidson et al, 1993).

En dépit de ces difficultés, la mémoire chez l'animal a été organisée soit en fonction des substrats anatomiques requis pour réaliser une tâche, soit en fonction des caractéristiques psychologiques de la tâche.

## **1. systèmes « hippocampe dépendants » et « hippocampe-indépendants »**

Pour ce qui concerne les substrats anatomiques, on distingue les épreuves perturbées par un dysfonctionnement de l'hippocampe et/ou des structures adjacentes (cortex rhinal, gyrus parahippocampique, diencéphale...) (système de mémoire "hippocampe-dépendant"), qui supportent la mémoire déclarative chez l'homme, de celles qui n'impliqueraient pas ces substrats anatomiques ("hippocampe-indépendant"). Le problème est de caractériser les épreuves réellement sous-tendues par l'un ou l'autre des deux systèmes. En effet, l'évaluation de la mémoire chez l'animal requiert le plus souvent l'apprentissage d'une règle comportementale par laquelle va s'exprimer la mémoire d'un événement. Les épreuves mettant en jeu les formes de mémoire de type « épisodique » chez l'animal (par exemple les épreuves de non appariement) impliquent donc une composante procédurale non négligeable, ce qui n'est pas le cas chez l'homme. De même, les conditionnements classiques (appuyer sur un levier pour obtenir de la nourriture...) sont considérés comme des épreuves de mémoire purement procédurale. Mais, comme le fait remarquer Nadel (1995), au cours du conditionnement, le sujet acquiert des informations et les traite pour faire face aux conditions environnementales nouvelles, ce qui relève de la mémoire déclarative, en tout cas au début du conditionnement. Le problème est encore plus complexe lorsqu'on considère, comme l'indiquent certaines données, que les systèmes de mémoire « hippocampe-dépendants » (perturbé par la lésion de l'hippocampe) et « hippocampe-indépendants » (préservés après la lésion) ne

sont pas hermétiques mais entretiennent des relations fonctionnelles et interagissent (Jaffard et Meunier, 1993)

## **2. Mémoire de référence/Mémoire de travail**

Une autre dichotomie réside cette fois-ci sur les concepts de mémoire de travail et de mémoire de référence. La mémoire de travail (Honig, 1978) est en œuvre lorsque l'information à retenir est utile pour la réalisation de la tâche immédiatement en cours. Lorsque cette information n'est plus pertinente, l'animal se doit de « l'oublier » (« resetting mechanisms ») afin qu'elle n'interfère pas avec la mémorisation des informations utiles pour la tâche suivante. La mémoire de travail se caractérise par une durée limitée dans le temps, la nécessité d'effacement de l'information, la liaison de chaque information à un contexte spatial et/ou temporel, et la sensibilité à l'interférence .

Au contraire, la mémoire de référence est stable, elle permet l'utilisation d'une même information d'un essai à l'autre (discriminations spatiales), et autorise la mémorisation à long terme des informations, réutilisables chaque fois que l'animal est replacé dans une tâche similaire. Ce type de mémoire est peu sensible à l'interférence et est relativement peu dépendante du contexte.

Pour Olton et al, (1979), la mémoire de travail est sous-tendue par l'hippocampe, alors que la mémoire de référence est indépendante de l'hippocampe. Cependant, diverses expérimentations n'ont pas permis de montrer que les fonctions hippocampiques respectent ou se limitent à la dichotomie « mémoire de travail/mémoire de référence ».

## **3. Mémoire spatiale/Mémoire non spatiale**

Suite à la découverte de l'existence de cellules de lieu dans l'hippocampe, (O'Keefe et Dostrovsky, 1971), Nadel et O'Keefe énoncent la théorie de la

« carte cognitive ». La formation hippocampique sous-tend un système de mémoire dit « local » permettant tout type d'apprentissage spatial (O'Keefe et Nadel, 1978). Ce système, basé sur l'activité exploratoire, se caractérise par sa grande flexibilité et permet d'établir une représentation spatiale globale des relations entre objets dans l'environnement. Il s'oppose à un système dit « taxinomique », peu flexible et non dépendant de l'hippocampe. Ce système, basé sur le renforcement des comportements d'approche et d'évitement permet de classer des stimuli précis dans des catégories (taxons).

#### **4. Mémoire relationnelle**

Eichenbaum propose une théorie plus globale du fonctionnement de l'hippocampe. Cet auteur postule que l'hippocampe participerait à un système plus général de traitement de l'information et interviendrait notamment dans les processus de représentations relationnelles des items en mémoire et dans l'utilisation flexible des représentations, permettant à l'animal d'effectuer des inférences dans une situation nouvelle (Eichenbaum et al, 1996). Ces propriétés, qui sont également en œuvre dans la mémoire déclarative humaine, ne sont pas dépendantes de la verbalisation ; elles sont sous tendues par l'hippocampe et peuvent être observées chez l'animal.

Au contraire, les représentations mnésiques indépendantes de l'hippocampe ont pour caractéristiques d'être individuelles et non flexibles. Elles seraient supportées par des modules cérébraux isolés, et prennent la forme de traces séparées qui seraient réactivées seulement lorsque les conditions sont identiques à celles dans lesquelles l'apprentissage initial a eu lieu. Elles permettent l'acquisition de procédures et d'informations non contingentes, et sous-tendent une forme de mémoire implicite pouvant être identifiée aux apprentissages

taxinomiques décrits par O'Keefe et Nadel (1978) ou la mémoire de référence (Olton , 1979).

### **C. LES PROCESSUS MNESIQUES**

La notion de processus mnésique renvoie à une opération précise, menée dans le but de parvenir à une performance mnésique. Des processus tels que l'encodage ou acquisition, permettant la prise d'informations nouvelles par le système nerveux ; l'auto-répétition, l'activation, le stockage et la consolidation permettant la conservation, au sein de ce système, des informations acquises; et enfin la récupération autrement appelée restitution ou rappel permettant l'accès différé à ces informations, sont des "constituants" de tous les systèmes de mémoire.

## **V. LES TROUBLES DE MEMOIRE CHEZ LES SUJETS KORSAKOFF**

Dans la mesure où nous étudions les effets de l'alcoolisation chronique sur la mémoire chez la souris, il nous paraît utile de préciser la nature de l'amnésie résultant de la consommation excessive et prolongée d'alcool chez l'homme, dénommée « syndrome de Korsakoff » ainsi que les atteintes cérébrales qui lui sont associées.

### **A. DONNEES PSYCHOLOGIQUES**

L'amnésie est un oubli pathologique qui résulte d'une altération des capacités mnésiques consécutive à un choc psychologique ou à une lésion du système nerveux. Elle est généralement conçue comme résultant d'une difficulté à fixer l'information (déficit du stockage temporaire de l'information), à indexer l'information à ses attributs spatio-temporel, à une sensibilité exagérée aux interférences, à une insuffisance de la profondeur du codage sémantique, etc... Toutes ces interprétations suggèrent que les troubles de mémoire résultent

d'avantage d'une difficulté à construire ou à mettre correctement en œuvre le ou les réseaux neuronaux qui supportent le système de mémoire en question lors de l'acquisition, du stockage ou de la consolidation de l'information, que d'une difficulté touchant spécifiquement les processus de restitution (Cf. cependant Johnson et Chalfonte, 1994). Ainsi, la défaillance des structures et/ou réseaux impliqués dans la perception de l'information, la convergence des attributs de l'information, la détection des variances et invariances, le stockage temporaire, la consolidation, l'indexation de l'information à un stock sémantique...serait responsable de l'amnésie.

Or, la plupart des auteurs admettent que la restitution mnésique dans un système de mémoire donné (notamment déclaratif) est influencée par les contraintes de l'épreuve ou les pressions environnementales plus larges (par exemple les consignes données au sujet dans les épreuves de reconnaissance ou de rappel, l'effort cognitif requis pour effectuer une réponse correcte, etc...), ainsi que par des facteurs non strictement mnésiques, cognitifs ou émotionnels.

Par ailleurs, l'étude de certains sujets amnésiques, suggère que les troubles de mémoire ne résultent pas toujours d'un déficit des systèmes cognitifs et/ou neurobiologiques assurant la prise en compte, le maintien temporaire des informations en mémoire et la consolidation à long terme ultérieure. Ces données admettent l'existence de déficits spécifiques de la restitution, pouvant être à l'origine de l'amnésie. Ainsi, les alcooliques chroniques présentant un syndrome de Korsakoff ont des troubles de mémoire essentiellement (mais non exclusivement) liés à une difficulté d'évocation (Lhermitte et Signoret, 1972). Des troubles spécifiques de la phase de restitution mnésique, apparemment indépendants de l'acquisition, ont été également mis en évidence chez l'animal de laboratoire. Par exemple, certains auteurs suggèrent que l'atténuation de l'inhibition latente chez des rats hippocampectomisés par rapport à des rats témoins reflète un trouble



spécifique de la "ré-activation" mnésique plutôt que de l'attention ou de la mémorisation (Johnson et Chalfonte, 1994). De même, les travaux réalisés au laboratoire sur des animaux soumis à une consommation chronique d'alcool, indiquent que le déficit mnésique dans une épreuve d'alternance différée est supprimé par l'administration de  $\beta$ CCM ou par la modification du contexte intralabyrinthe au moment de l'essai de rétention. Ces données corroborent l'hypothèse d'un trouble spécifique d'évocation, indépendant des phases d'acquisition et de consolidation, chez les animaux alcoolisés.

Le syndrome de Korsakoff est caractérisé par une amnésie antérograde majeure qui se définit par un oubli à mesure des faits survenus depuis l'installation du trouble. Le terme "oubli à mesure" peut prêter à confusion dans la mesure où il sous-entend que la trace mnésique s'efface progressivement voire qu'elle n'a pas été acquise, ce qui n'est pas toujours le cas. Cette première hypothèse a été soutenue par de nombreux auteurs qui ont suggéré que le déficit mnésique serait le fait d'une difficulté à encoder de façon complète les attributs d'une information, notamment les attributs sémantiques (par exemple, la présentation du mot "cerise" fait appel au concept "fruit" avec les attributs qui lui sont associés, à savoir la forme, la couleur...). D'après Butters (1984), l'insuffisance de l'encodage (c'est-à-dire, la faiblesse de l'indexation sémantique) provoquerait un stockage défectueux de l'information qui expliquerait la grande sensibilité aux interférences proactives (produite par le souvenir d'items antérieurs qui va perturber le rappel d'un item plus récent). A l'appui de cette interprétation, les travaux de Winocur et al (1981) montrent que les sujets Korsakoff sont plus dépendants des indices contextuels que les sujets témoins, particulièrement dans les situations où les interférences sont fortes.

D'autres interprétations ont été proposées pour expliquer les troubles mnésiques et concernent les processus de rappel; d'après Lhermitte et Signoret

(1972), le rappel chez les sujets Korsakoff peut être altéré de façon autonome et réaliserait un syndrome indépendant des troubles de la mémorisation. En effet, ces sujets présentent des difficultés à évoquer de façon spontanée un souvenir mais il n'y a pas d'oubli au sens strict puisque ce même souvenir peut être évoqué lorsque certains indices sont fournis (augmentation du temps d'exposition aux informations, rappel indicé, évocation implicite) (Huppert et Piercy, 1978a; Winocur, 1981). Ces données mettent l'accent sur la notion très importante de contexte, c'est-à-dire de l'environnement spatial et temporel, toujours unique, dans lequel se place l'événement à mémoriser.

L'ensemble de ces données témoigne de la complexité de l'amnésie korsakowienne qui, de plus, s'accompagne le plus souvent de troubles cognitifs particuliers qui vont moduler le trouble de la mémoire. Ainsi, certains désordres cognitifs observés chez les sujets Korsakoff se retrouvent dans le tableau clinique de sujets souffrant de lésions du lobe frontal.

L'hypothèse d'un dysfonctionnement cortical impliqué dans les désordres mnésiques des sujets Korsakoff trouve sa justification dans la similitude de certains troubles avec les sujets présentant des lésions du cortex frontal. D'après Paller et al (1997), les troubles comportementaux de type frontal seraient directement provoqués par l'action neurotoxique de l'alcool; par ailleurs, ils seraient la conséquence indirecte de lésions diencephaliques par perte des afférences thalamo-corticales et de la voie mammillo-thalamique. L'amnésie serait donc secondaire à une rupture ou une diminution des projections mamillaires et thalamiques.

Une importante étude menée avec divers groupes de sujets amnésiques a montré que les sujets Korsakoff présentaient un trouble frontal surajouté à l'amnésie, caractérisé par une sensibilité anormale aux interférences avec du

matériel spatial (Oscar-Berman et Zola-Morgan, 1980; Oscar-Berman 1980) ou verbal (Winocur, 1981). Par ailleurs, le déficit frontal se manifeste par la difficulté à organiser les informations dans une séquence temporelle (Squire, 1982; Schacter, 1987; Shaw et Aggleton, 1995) qui empêche les sujets Korsakoff d'établir des relations temporelles entre les événements et donc de différencier les plus anciens des plus récents. La comparaison directe entre sujets frontaux et Korsakoff montre que le profil du déficit est similaire dans ce type d'épreuve (Shimamura et al, 1990). Ce trouble fonctionnel a été décrit par Huppert et Piercy comme le résultat d'une incapacité à encoder le contexte spatio-temporel des événements (Huppert et Piercy, 1978b). Le jugement de la fréquence de présentation des événements est de la même façon déficitaire puisque ce processus, comme le jugement d'ordre temporel, implique la bonne prise en compte du contexte d'un événement (Weingartner, 1983). Ce déficit se manifeste par une tendance à juger les événements les plus récemment vus comme étant ceux qui se produisent le plus fréquemment (Huppert et Piercy, 1978b). En d'autres termes, ces sujets, qui ne sont pas capables de mémoriser les informations contextuelles d'un événement, auront tendance à inférer le "quand" et le "comment" liés à cet événement sur la base du souvenir le plus fort, c'est-à-dire le plus récent.

En dépit de la haute ressemblance entre les déficits de type "frontal" et l'amnésie des sujets Korsakoff, certaines études neuropsychologiques remettent en question l'assimilation du syndrome de Korsakoff à la seule pathologie frontale. Une étude récente a montré, d'une part, que les sujets Korsakoff présentent des déficits "frontaux" de même importance, en dépit d'atteintes corticales d'étendue variable, d'autre part, une corrélation élevée était observée entre le déficit d'indexation temporelle et la sévérité de l'amnésie antérograde, alors que le déficit temporel ne corrélait que faiblement

avec d'autres formes de troubles frontaux (Kopelman, 1992). Selon Kopelman, les déficits de mémoire contextuelle des patients Korsakoff seraient davantage liés à des troubles diencéphaliques ou hippocampiques, plutôt qu'aux lésions frontales elles mêmes. Cette conclusion rejoint en partie celle de Parkin et al (1992) pour qui la "mémoire contextuelle" ne peut être entièrement sous-tendue par le néocortex: les déficits d'indexation temporelle sont observés surtout lorsqu'il y a interruption d'un circuit sous-cortical reliant les noyaux thalamiques centraux et le cortex dorsolatéral préfrontal .

### **B. DONNEES NEUROBIOLOGIQUES**

Malgré un nombre important d'études anatomo-cliniques, les bases neurobiologiques précises de l'amnésie diencéphalique d'origine alcoolique sont encore confuses. A ce jour, deux systèmes différents sont considérés comme pouvant être à la base des déficits mnésiques des patients Korsakoff. Certains auteurs suggèrent que l'atteinte des corps mamillaires de l'hypothalamus, ou plus exactement l'interruption du circuit hippocampo-mamillo-thalamique (thalamus antérieur) (Brion et Mikol, 1978 ; von Cramon et al, 1985) serait responsable du syndrome de Korsakoff. Cette position est contredite par Victor et al (1989), qui montrent que la seule lésion du thalamus suffit à altérer la mémoire. Selon d'autres auteurs, l'amnésie diencéphalique résulterait de l'atteinte du thalamus médiodorsal et de ses connections avec le cortex préfrontal (Preuss et Goldman-Rakic, 1987 ; Victor et al, 1989). Cependant, pour les différents cas cliniques étudiés, les atteintes étaient rarement strictement focalisées au niveau du thalamus médiodorsal et incluaient souvent des structures adjacentes.

## VI. RELATION ENTRE STRESS ET MEMOIRE

D'une façon générale, le stress se traduit sur un plan comportemental par une réduction de la fréquence d'émission d'un comportement, ainsi que par une réduction de l'interaction sociale. L'exposition chronique ou ponctuelle à un stress peut produire dans certains cas des troubles psychologiques très sévères (schizophrénie, dépression,..) ainsi que des troubles importants de l'apprentissage et de la mémoire.

Les troubles de la mémoire ont été attribués à différents facteurs neurobiologiques. Pour certains, le stress entraînerait surtout un dysfonctionnement du cortex préfrontal. Ainsi, l'exposition à un stress sonore ponctuel (>95dB) perturbe des apprentissages complexes, et réduit l'attention des sujets dans diverses épreuves de mémoire ; ces déficits ont été attribués à un dysfonctionnement du cortex préfrontal, notamment à une perturbation de la voie dopaminergique mésocorticale , et plus particulièrement à un accroissement de la libération de dopamine dans cette région cérébrale (Arnsten et Goldman-Rakic, 1998). D'autres auteurs évoquent surtout l'importance d'une altération fonctionnelle de l'hippocampe pour expliquer les troubles de mémoire résultant du stress. Par exemple, des études électrophysiologiques montrent que la confrontation à la nouveauté, pendant une épreuve de mémoire de travail produit un blocage de la plasticité synaptique au niveau de l'hippocampe ainsi qu'une amnésie rétrograde (Diamond et Gordon, 1997). Le rôle potentiel des altérations fonctionnelles de l'hippocampe par le stress a été récemment confirmé par Jeansok et Yoon (1998), qui montrent des troubles de l'apprentissage associés à une altération de la plasticité synaptique au sein de cette structure cérébrale. Pour certains, le dysfonctionnement hippocampique pourrait résulter d'une altération de la fixation (par excès ou par

défaut) des glucocorticoïdes circulants, dont la production est stimulée par la mise en jeu de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien ou axe corticotrope sous l'effet du stress. Les glucocorticoïdes influencent le fonctionnement de l'hippocampe et modulent (facilitent ou perturbent) les processus mnésiques (Yau et al, 1995). Il est intéressant de constater que l'augmentation chronique des glucocorticoïdes ne perturbent pas la mémoire de travail mettant en jeu les fonctions du cortex frontal alors que la mémoire de travail reposant sur l'activité de l'hippocampe est fortement perturbée (McEwen et Sapolsky, 1995; Wolkowitz et al, 1990).

Si de façon générale, les études mentionnées ci-dessus montrent que le stress module (perturbe ou facilite selon les épreuves et les substrats neurobiologiques mis en jeu) la mémoire de travail, l'étude des effets du stress sur la mémoire procédurale ou automatique est plus marginale, et les résultats sont contrastés. Le stress peut faciliter chez l'homme ou chez l'animal l'acquisition de certains conditionnements pourvus d'une composante associative forte (et impliquant l'activité de l'amygdale et /ou de l'hippocampe tels que certains conditionnements pavloviens (Cahill et al, 1994 ; Holmes et Drugan, 1991). Certaines études montrent que le stress ne perturbe pas les épreuves de mémoire (procédurale ou de travail) ne reposant pas sur l'activité de la formation hippocampique (Ohl et Fuchs, 1999). Dans certains cas, par contre, l'augmentation de l'anxiété peut avoir un effet perturbateur sur l'acquisition de discriminations spatiales simples, alors que la consolidation ou la restitution ne sont pas touchées (Venault et al, 1987). On doit cependant mentionner les travaux de Mc Gaugh (De Quervain et al, 1998) montrant qu'un stress facilite la restitution mnésique dans une épreuve de discrimination spatiale en labyrinthe aquatique, selon des mécanismes faisant intervenir les glucocorticoïdes centraux.

## VII. OBJECTIFS DE LA THESE

Notre thèse s'inscrit dans le cadre général des études portant sur les processus de mémoire dans leurs aspects neurobiologiques centraux, qui visent à déterminer d'une part le rôle de certaines structures, circuits neuroanatomiques ou neuromédiateurs dans les processus mnésiques et à étudier d'autre part l'influence de traitements (dans notre étude, le stress) pré et/ou post-apprentissage qui modifient ces mêmes processus.

Les données précédentes montrent que les processus mnésiques et les émotions sont en étroite interaction. D'ailleurs, les déficits de mémoire de certains sujets amnésiques sont influencés par la valeur émotionnelle des informations à retenir. Selon Talland (1965), l'amnésie antérograde des sujets Korsakoff résulterait de leur incapacité à engager et maintenir une composante émotionnelle lors de la saisie des informations. De nombreux travaux suggèrent que la sévérité de l'amnésie dépend en partie de la valeur émotionnelle des informations à retenir. Ainsi, les informations porteuses d'une valeur émotionnelle forte sont mieux retenues chez les sujets Korsakoff que celles ayant une valeur émotionnelle plus neutre (Oscar-Berman, 1984).

Chez l'animal, des études réalisées antérieurement au laboratoire ont montré que la consommation chronique d'alcool induisait chez la souris un déficit sélectif de la restitution mnésique parallèlement à une réduction de la réactivité émotionnelle. Ce trouble de l'évocation est supprimé par l'administration d'agents pharmacologiques à potentiel anxiogène (Béracochéa et al, 1995 ; Borde et al, 1996). Inversement, l'administration d'un agent à potentiel anxiolytique (le diazépam) chez l'animal normal, induit une amnésie de restitution, comparable à celle observée chez les souris alcoolisées (Borde et al, 1998, 1999 ; Krazem et al, 2001). Pour la plupart, ces résultats ont été obtenus dans une épreuve de

mémoire (alternance spontanée) ne faisant pas appel à un agent renforçant (appétitif ou aversif).

Comme nous l'avons précisé précédemment, l'essentiel des données montrant l'interaction entre processus émotionnel et mnésique porte sur les phases d'acquisition et/ou de consolidation, alors que l'interaction entre stress et restitution mnésique n'est que plus marginalement étudiée (Cf. cependant De Quervain et al, 1998).

Compte tenu des données dégagées au laboratoire à partir des études des effets de l'alcoolisation sur la mémoire et les émotions (Cf. supra), l'objectif général de notre thèse est de déterminer si les processus de restitution mnésique sont susceptibles d'être modulés par le stress et ce, tant chez la souris alcoolisée que chez la souris normale (non alcoolisée).

Notre premier objectif visait à caractériser, tant d'un point de vue comportemental que neurobiologique, une interaction entre stress et restitution mnésique. A cet effet, et contrairement aux études antérieures réalisées par Béracochéa et al (Cf. supra), nous avons eu recours à des épreuves mettant en jeu une composante émotionnelle. Dans un premier temps, nous avons utilisé un outil comportemental déjà disponible au laboratoire (la réponse émotionnelle conditionnée ou REC (Laurent-Demir, 1997 ; Desmedt, 2000) chez la souris normale ou alcoolisée. Parallèlement, nous avons appréhendé l'aspect neurobiologique au moyen d'une approche invasive lésionnelle. Dans un second temps, nous avons élaboré et développé un outil comportemental (Discriminations Spatiales Contextuelles Sérielles dans une planche à trous, DSCS), plus pertinent pour notre étude, permettant d'objectiver directement l'interaction entre stress et restitution mnésique. Parallèlement, nous avons essayé de déterminer les substrats neurobiologiques impliqués dans cette épreuve, tant



chez la souris normale qu'alcoolisée, d'une part, au moyen d'une approche non invasive d'imagerie cérébrale consistant en l'étude immunohistochimiques de l'expression de la protéine Fos (en collaboration avec N.MONS et B BONTEMPI, CR CNRS) et d'autre part en utilisant l'outil pharmacologique.

Le second objectif de notre thèse était de déterminer si l'activation de l'axe corticotrope et plus précisément la libération de glucocorticoïdes (corticostérone chez le rongeur) pouvait être responsable de l'effet du stress sur la restitution mnésique. A cet effet, nous avons tout d'abord étudié l'impact du stress utilisé dans le protocole de DSCS, sur la concentration de corticostérone plasmatique (en collaboration avec A. SARRIEAU, Prof. Bordeaux I), puis nous avons étudié l'effet de l'administration de métyrapone, inhibiteur de synthèse de la corticostérone, sur la modulation par le stress de la restitution mnésique .

Enfin, bien que ce ne soit pas un objectif direct de notre thèse, nous avons également étudié les conséquences comportementales et neurobiologiques du vieillissement dans toutes les études de ce travail. En effet, du fait de contraintes inhérentes au protocole d'alcoolisation chronique (Cf. méthodologie), les animaux témoins des souris alcoolisées sont relativement âgées (entre 17 et 19 mois). Ainsi, la comparaison systématique de ces animaux « âgés » à des souris « jeunes adultes » (6 mois d'âge) permet de contrôler les effets de la variable « vieillissement ».

# Chapitre II

MÉTHODOLOGIE GÉNÉRALE

Les épreuves comportementales utilisées pour l'étude de la mémoire et de la réactivité émotionnelle, ainsi que les procédures pharmacologiques et immunohistochimiques seront décrites dans leur principe général dans ce chapitre. La description des protocoles expérimentaux, spécifiques à chacune des expériences sera précisée dans les chapitres suivants.

## **I. LES SUJETS EXPERIMENTAUX**

### **A. LES ANIMAUX**

Des souris mâles appartenant à la lignée BALB/c (IFFA CREDO, Lyon) ont été utilisées pour l'ensemble des expériences. Les souris BALB/c sont albinos et proviennent d'une colonie maintenue en consanguinité depuis 1913. Cette consanguinité favorise l'homogénéité interindividuelle des repères stéréotaxiques des structures cérébrales, des réactions comportementales ainsi que des facteurs génétiques.

Nos travaux faisant suite à des travaux antérieurs relatifs aux effets de l'alcoolisation chronique sur la mémoire, nous avons choisi la même lignée de souris dans un souci de continuité et de cohérence de l'étude.

### **B. CONDITIONS D'ÉLEVAGE**

Les souris proviennent du centre d'élevage IFFA CREDO (Lyon) et sont fournies par lots homogènes de 20 sujets âgés de 6 à 8 semaines. A leur arrivée au laboratoire, chaque lot est placé en cage collective avec nourriture et boisson à volonté, dans une animalerie climatisée (23°C) et éclairée artificiellement de 7h00 à 19h00. Les souris ne seront soumises aux épreuves comportementales qu'au moins un mois après leur arrivée.

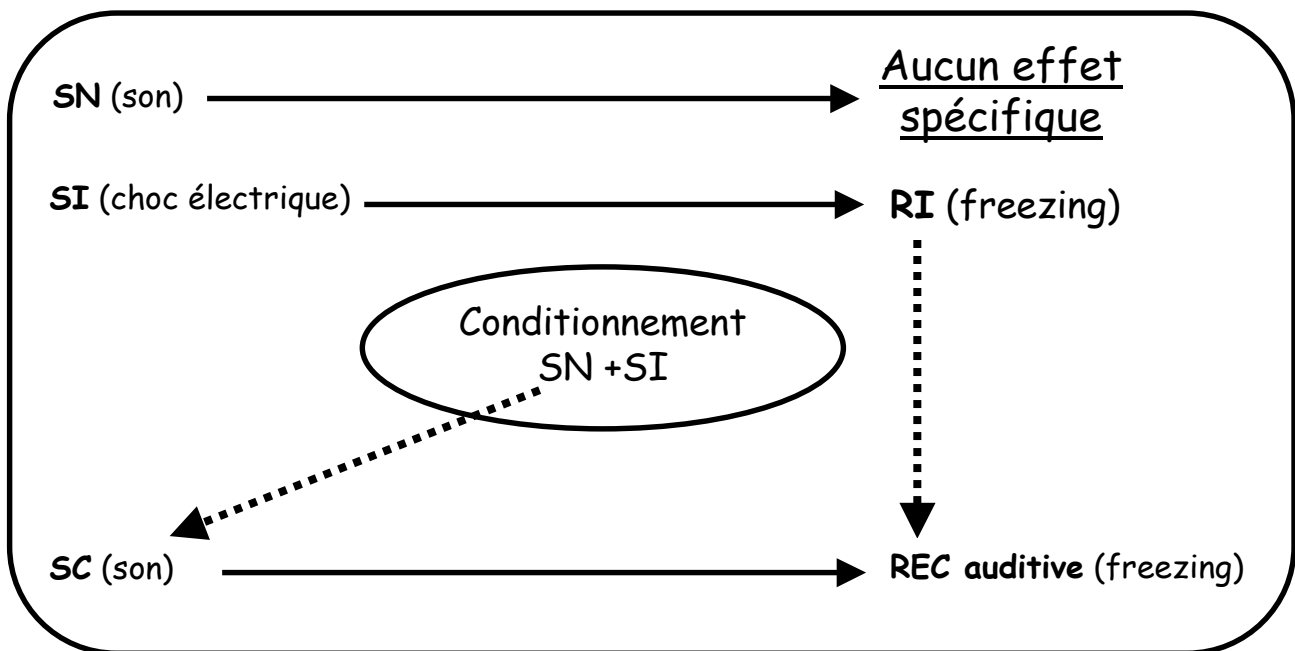


Figure II.1 : Principe général du conditionnement aversif

Les animaux sont isolés en cages individuelles 15 jours avant le début de l'expérimentation avec accès libre à la nourriture et à l'eau. Ils sont manipulés quotidiennement 4 jours avant l'épreuve comportementale de façon à réduire les réactions de peur et d'anxiété causées par l'expérimentateur et pouvant interférer avec les mesures comportementales effectuées.

### **C. PRIVATION ALIMENTAIRE**

Certaines épreuves comportementales impliquent la recherche d'un agent renforçant alimentaire. Afin d'accroître la motivation pour cette recherche, les animaux sont soumis à une privation alimentaire partielle : la quantité de nourriture est progressivement diminuée pendant 3 jours consécutifs afin d'obtenir une perte pondérale comprise entre 8 et 10% du poids initial. Pendant toute la durée de l'expérience, chaque souris est pesée puis nourrie de façon à maintenir constante la perte pondérale. Les animaux ont un accès libre à l'eau.

## **II. EPREUVES COMPORTEMENTALES**

### **A. RÉPONSE EMOTIONNELLE CONDITIONNÉE**

#### **1. Principe général** (Cf. Figure II.1)

Le conditionnement consiste à associer un stimulus neutre (SN : un son), qui au départ est dépourvu d'effet spécifique, avec un stimulus inconditionnel (SI : un choc électrique aux pattes) qui provoque une réponse inconditionnelle (RI : l'immobilité totale de l'animal ou « freezing »). Après association par contiguïté entre le SN et le SI, le SN devient le stimulus conditionnel (SC) et peut déclencher à lui seul la RI (qui devient alors la réponse émotionnelle conditionnée, REC). Le conditionnement étant réalisé dans un contexte environnemental large (cage de conditionnement et stimuli extérieurs) ce

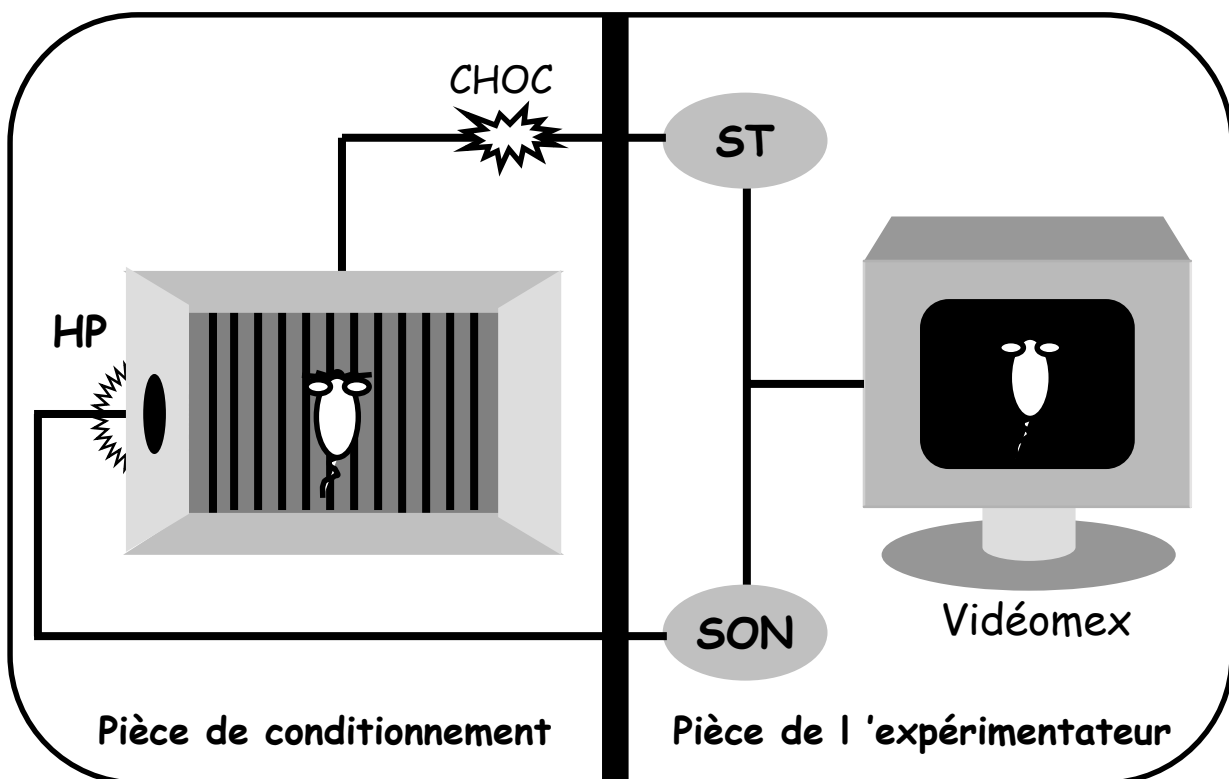


Figure II.2 : Dispositif expérimental pour l'épreuve de réponse émotionnelle conditionnée

contexte est également associé au choc électrique par généralisation avec le SC et peut également déclencher une REC contextuelle. Cette épreuve permet donc d'évaluer le souvenir du conditionnement proprement dit (association élémentaire son/choc : REC auditive) mais aussi des attributs du contexte dans lequel s'effectue ce conditionnement (REC contextuelle). La réponse émotionnelle conditionnée d'immobilisation ou « freezing » se définit comme l'absence totale de mouvement de la part de l'animal, hormis les mouvements respiratoires (Blanchard et Blanchard, 1969) et constitue un indice de peur pertinent pour mesurer l'établissement d'un conditionnement aversif chez la souris (Fanselow, 1980).

## 2. Dispositif expérimental (Cf. figure II.2)

La chambre de conditionnement est une enceinte rectangulaire (longueur = 45 cm ; largeur = 30 cm ; hauteur = 25 cm) fermée par des parois opaques en matière plastique. Le plancher est constitué de 72 barrettes en acier inoxydable de 3 mm de diamètre, espacées de 5 mm et reliées à un stimulateur électrique (ST). Un haut-parleur (HP), connecté à un générateur de son (SON), est placé au centre de l'une des parois de la cage. L'ensemble est supervisé par une caméra reliée à un dispositif d'analyse de mouvement VIDEOMEX (programme MZDT « multiple zone distance traveled », Columbus Instrument). Ce dispositif permet la détection de la position de l'animal dans la chambre de conditionnement et l'analyse automatique de différents paramètres comportementaux :

- *Temps de mobilité* : temps en secondes pendant lequel l'animal explore activement l'environnement.
- *Temps de stéréotypies* : temps en secondes pendant lequel l'animal manifeste des conduites stéréotypées (toiletage, mouvements de tête).

- *Temps d'immobilité*: temps en secondes d'immobilité complète ou freezing.

Les données recueillies peuvent être éditées par tranches de temps variables. Le bruit de fond et l'éclairage (20 lux) de la pièce de conditionnement sont maintenus constants. La cage de conditionnement est soigneusement nettoyée à l'alcool à 95% puis à l'eau après le passage de chaque animal. Cette précaution est indispensable dans la mesure où les animaux sont soumis à une situation de peur intense et peuvent émettre des substances diverses (hormones, urine...) perceptibles par les sujets suivants. Le nettoyage permet d'éliminer ces indices olfactifs.

## **B. DISCRIMINATIONS SPATIALES CONTEXTUELLES SÉRIELLES (DSCS)**

### **1. Principe général**

Contrairement à l'épreuve précédente, cette épreuve est basée sur la reconnaissance d'emplacements spatiaux associés à un agent renforçant alimentaire appétitif, et met en jeu un comportement d'approche plutôt que l'inhibition comportementale (Cf. « freezing » de l'épreuve précédente). De nombreuses données montrent que les effets des molécules à potentiel anxiogène ou anxiolytique varient selon la nature de l'épreuve et le « degré » de l'inhibition comportementale impliquée dans la réponse étudiée. Nous avons élaboré cette épreuve mnésique afin d'évaluer les effets d'un stress aigu appliqué 5 minutes avant l'essai de rétention sur la restitution mnésique.

Dans cette épreuve, l'animal est soumis à deux discriminations spatiales successives réalisées dans une planche à quatre trous, et séparées par un délai court. L'animal effectue une première discrimination sur un plancher spécifique (blanc et rugueux par exemple), puis, deux minutes plus tard, il effectue une seconde discrimination sur un plancher différent du premier (noir et lisse par



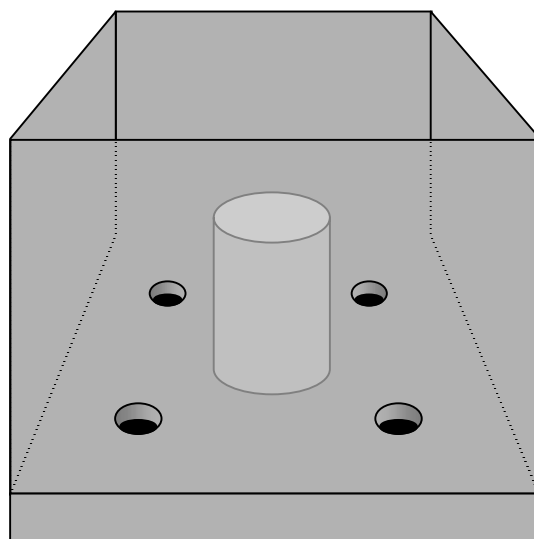


Figure II.3 : Boîte à quatre trous

exemple) ; dans ce cas, lors de la seconde discrimination, le trou appâté est toujours symétrique au trou renforcé lors de la première discrimination. L'animal est ensuite soumis à une phase de rétention, survenant 5 minutes ou 24 heures après la dernière discrimination. Dans cette phase, la planche à trou comporte le plancher utilisé soit lors de la première discrimination, soit lors de la seconde discrimination. L'hypothèse est que les souris visiteront davantage et plus longtemps le trou appâté associé au plancher spécifique utilisé lors de l'acquisition de la discrimination. Cette phase de rétention peut être précédée d'une expérience stressante (délivrance de chocs électriques aux pattes dans une autre pièce). Ainsi, cette procédure permet d'étudier la sensibilité à l'interférence rétroactive ou proactive, l'effet du délai de rétention (5 minutes ou 24 heures) et l'effet du stress sur la restitution mnésique.

Par ailleurs, afin de déterminer le « poids » de l'interférence dans la performance, des groupes ont été soumis à une situation « sans interférence » ; dans ce cas, l'animal est soumis à une seule discrimination, et la rétention est évaluée pour les mêmes intervalles temporels que ceux cités précédemment (5 minutes et 24 heures).

Enfin, pour apprécier l'importance de la variation contextuelle lors des deux discriminations successives sur la performance, des souris ont été soumises à un protocole consistant en l'acquisition de deux discriminations sérielles comme précédemment exposé, mais effectuées sur un plancher identique (couleur grise).

## **2. Appareil** (Cf. Figure II.3)

La boîte à 4 trous est une enceinte carrée en Plexiglas gris opaque, de 45 cm de côté et de 30 cm de hauteur. Le plancher de l'appareil est percé de quatre trous de 3 cm de diamètre, situés à chaque coin de l'enceinte à une distance de 6 cm des parois. L'appareil est muni de plusieurs planchers interchangeables de

couleurs et de textures différentes : un plancher lisse gris, un plancher blanc rugueux et un plancher noir lisse. Des cellules photoélectriques placées au fond de chaque trou et reliées à un ordinateur situé dans la pièce adjacente permettent de mesurer différents paramètres :

- temps de visite par trou (secondes)
- fréquence de visite par trou
- temps total de visite des 4 trous (secondes)
- fréquence totale de visite des 4 trous
- rapport temps par trou = temps de visite par trou / temps total de visite des 4 trous
- rapport fréquence par trou = fréquence de visite par trou / fréquence totale de visite des 4 trous

De plus, les déplacements de l'animal dans l'appareil sont observés sur un écran vidéo et enregistrés sur bandes magnétiques depuis la pièce adjacente.

Le bruit de fond et l'éclairage (20 lux) de la pièce sont maintenus constants. La boîte à 4 trous est soigneusement nettoyée à l'alcool à 95% puis à l'eau après chaque essai. En effet, dans cette épreuve impliquant l'utilisation d'un renforcement alimentaire, le trou spécifique appâté lors de l'acquisition varie entre 2 essais pour une même souris et entre chaque souris. L'odeur des pastilles alimentaires de l'essai précédent doit être éliminée ainsi que les différents indices olfactifs laissés par chaque souris. Au début de chaque essai, l'animal est placé au centre de l'appareil pendant 5 secondes, dans un cylindre de Plexiglas opaque (16 cm de hauteur et 13 cm de diamètre) afin de permettre une

orientation aléatoire de départ dans l'appareil.

### **C. ÉVALUATION DE LA RÉACTIVITÉ ÉMOTIONNELLE**

Classiquement, l'étude de la réactivité émotionnelle est effectuée en analysant le comportement exploratoire des rongeurs placés dans des situations qui exploitent leur aversion spontanée envers la lumière, les espaces ouverts, le vide et la nouveauté. De nombreux protocoles comportementaux ont ainsi été mis au point. Leur validation en tant que modèles de mesure « d'anxiété » repose sur leur sensibilité aux benzodiazépines utilisées en clinique pour le traitement de l'anxiété. Le potentiel anxiolytique d'une molécule est estimé par sa capacité à augmenter la fréquence d'une conduite normalement supprimée dans une situation aversive. Ces épreuves ont été mises au point dans la perspective de prédire l'efficacité de composés en tant qu'anxiolytiques cliniquement actifs et comprendre leur mécanisme d'action d'une part, et d'autre part, d'étudier plus globalement la neurobiologie de l'anxiété (Thiébot, 1993). En effet, certains indices comportementaux peuvent être considérés comme des signes d'augmentation ou de diminution de l'anxiété chez le rongeur. De plus, ces tests sont rapides et ne nécessitent aucun apprentissage de la part de l'animal. Enfin, ils sont sensibles à la fois aux effets des agents anxiogènes ou anxiolytiques.

#### **1. Principe général**

Cette épreuve a été mise au point par Montgomery (1955) et repose sur l'aversion naturelle des rongeurs face aux espaces ouverts et élevés. Pellow et al (1985) ont validé la procédure en tant que modèle d'anxiété chez le rat en démontrant que les animaux visitent plus fréquemment et plus longtemps les bras fermés que les bras ouverts. De plus, les visites dans les bras ouverts s'accompagnent de manifestations émotionnelles telles que l'immobilisation, défécation, miction, aplatissements etc., mais aussi d'une augmentation plus

importante de la concentration plasmatique de corticostérone que dans les bras fermés. Ces auteurs ont également montré que l'aversion pour les espaces ouverts est respectivement diminuée et accrue par les composés anxiolytiques et anxiogènes. Des résultats comparables ont été obtenus ultérieurement chez la souris (Lister, 1987). De plus, certaines études plus récentes, en ajoutant diverses mesures éthologiques aux paramètres classiquement pris en compte dans cette épreuve (Cruz et al, 1994 ; Rodgers et Johnson, 1995 ; Espejo, 1997) ont non seulement confirmé les résultats antérieurs basés sur le nombre très limité de mesures classiques, mais ont aussi démontré l'existence de dimensions comportementales supplémentaires. En effet, en mettant en œuvre les analyses statistiques appropriées (analyse factorielle, analyse Markovienne, analyse en composante principale), les différents auteurs ont montré qu'il est possible d'appréhender jusqu'à 6 facteurs différents dans cet appareil : l'anxiété, l'activité locomotrice, la prise de risque, la prise de décision (conflit approche/évitement), l'activité verticale et l'activité exploratoire. Ces études ont contribué à fournir des bases plus rationnelles pour sélectionner les indices les plus pertinents selon la dimension comportementale que l'on cherche à observer dans le labyrinthe en croix surélevé.

A la lumière de ces études, nous nous intéresserons plus particulièrement

aux paramètres comportementaux reflétant « l'anxiété » des animaux :

- le nombre de visites dans les bras ouverts
- le temps passé dans les bras ouverts

**Plus ces valeurs sont faibles, plus l'animal est considéré comme « anxieux »**

- le temps passé dans les bras fermés

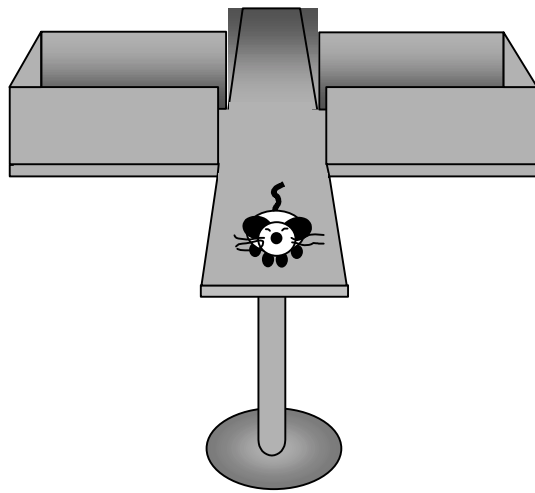


Figure II.4 : Labyrinthe en croix surélevé

**Plus cette valeur est élevée, plus l'animal est considéré comme « anxieux »**

$$- \text{ l'index d'activité} = \frac{\text{nombre de visites dans les bras ouverts}}{\text{nombre total de visites}}$$

$$- \text{ l'index de temps} = \frac{\text{temps passé dans les bras ouverts}}{\text{temps total de visites}}$$

**Plus ces index sont faibles, plus l'animal est considéré comme « anxieux »**

aux paramètres reflétant l'activité locomotrice:

- le nombre total d'entrées dans les 4 bras
- le nombre d'entrées dans les bras fermés

**Plus ces valeurs sont faibles, plus l'activité locomotrice de l'animal est réduite**

et au paramètre reflétant la prise de décision:

- le temps passé sur la plate-forme centrale

## **2. Appareil (Cf. Figure II.4)**

L'appareil est un labyrinthe en forme de croix, en Plexiglas gris. De la plate-forme centrale (7 x 7 cm) partent quatre bras (30 x 7 cm), dont deux sont limités par des parois verticales d'une hauteur de 17 cm (bras fermés) alors que les deux autres bras en sont dépourvus (bras ouverts). L'appareil est surélevé de 55 cm et fortement éclairé (100 lux) afin d'accroître la composante anxiogène de l'épreuve. Les animaux sont placés dans l'appareil pendant 5 minutes et leur comportement est enregistré sur bande vidéo.

### **III. TRAITEMENTS UTILISÉS**

#### **A. PROCÉDURE D'ALCOOLISATION CHRONIQUE**

Environ un mois après leur arrivée au laboratoire, les animaux soumis à la procédure d'alcoolisation chronique sont répartis par lots de 10 souris. Le groupe expérimental « alcool » reçoit comme unique boisson une solution d'éthanol à 95% diluée et additionnée de saccharose. La concentration d'éthanol est progressivement augmentée pendant 3 semaines consécutives (solution à 4%, 8% et 12%) puis maintenue à 12% pendant au moins 12 mois. Les groupes témoins sont constitués d'animaux recevant soit de l'eau (groupe « eau ») soit une solution isocalorique à l'alcool (amidon dextrinisé, groupe « amisol »). Au terme du traitement, les groupes « alcool » et « amisol » sont progressivement sevrés pendant 3 semaines consécutives (solutions à 8%, 4% puis 0%). Le sevrage progressif minimise les conséquences neurobiologiques et comportementales d'un sevrage brutal (Cf. Annexe 1). Les animaux ne seront soumis aux épreuves comportementales qu'après un délai de sevrage d'environ un mois.

#### **B. TECHNIQUE LÉSIONNELLE**

Nous avons utilisé l'approche lésionnelle dans le cadre de l'épreuve comportementale de réponse émotionnelle conditionnée. Nous avons comparé les effets de l'alcoolisation chronique et les effets de lésions expérimentales circonscrites à certaines structures cérébrales (hippocampe ou corps mamillaires ou thalamus antérieur). L'objectif était d'évaluer la contribution respective de chacune de ces structures au déficit mnésique observé chez les animaux alcoolisés.



## 1. Principe

Dans ce travail, nous avons choisi de réaliser des lésions neurotoxiques et non électrolytiques. Ce procédé présente l'avantage de préserver les fibres de passage (Guldin et Markowitsch, 1982) et les terminaisons afférentes (Köhler et Schwartz, 1983), puisqu'il détruit sélectivement les corps cellulaires dans la région de diffusion. Les lésions neurotoxiques sont obtenues par injection intracérébrale d'acide iboténique, neurotoxine se fixant aux récepteurs glutamatergiques et induisant, par excitotoxicité, une lyse osmotique des neurones.

## 2. Procédure d'injection du neurotoxique

A la suite d'une période d'isolement de 15 jours, chaque animal est anesthésié au thiopental sodique injecté par voie intrapéritonéale (Nesdonal<sup>®</sup>, 70 mg/kg) et complété par 0,01 ml de sulfate d'atropine afin de limiter la formation de mucosités dans les voies respiratoires. L'animal est ensuite fixé sur l'appareil stéréotaxique (Kopf) et les trous de trépanation sont réalisés selon les coordonnées des régions à léser. L'acide iboténique (Sigma) est dissout à une concentration de 10  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$  dans du tampon phosphate (solution saline, pH final 7.4). Les injections d'acide iboténique sont effectuées à l'aide d'une micropipette de verre d'environ 20  $\mu\text{m}$  de diamètre, montée sur une seringue Hamilton (1  $\mu\text{l}$ , Poly Labo) et descendue *in situ*. L'injection du produit est effectuée progressivement (10 minutes) pour ne pas endommager les tissus par une trop forte pression. De plus la micropipette demeure en place pendant 10 minutes supplémentaires après la fin de l'injection, afin de permettre la diffusion du produit dans les tissus et d'éviter l'aspiration de la solution lors de la remontée de la micropipette. Les animaux Témoins « opérés, non injectés » subissent le même protocole mais ne reçoivent pas d'injection. Les souris sont ensuite

replacées dans leur cage d'élevage dans une pièce chauffée à 25°C pendant une nuit puis sont placées à l'animalerie pour une période de récupération postopératoire de 15 jours.

### 3. Coordonnées stéréotaxiques des structures lésées

(considérées par rapport au Bregma)

<b>SITE</b> \ <b>AXE</b>	Antero-posteriorité ( $\mu\text{m}$ )	Latéralité ( $\mu\text{m}$ )	Profondeur ( $\mu\text{m}$ )	Nbre de site d'injection par hémisphère	Volume injecté par site (nl)
<b>CM</b> (Corps mamillaires)	-220	0	-525	1 injection médiante	40
<b>HPC</b> (Hippocampe dorsal)	- 170	$\pm 110$ ; $\pm 130$	-110 ; -130	2	20
<b>THA</b> (Thalamus antérieur)	-120	$\pm 100$ ; $\pm 70$	-250 ; -330	2	20

#### C. ÉTUDES PHARMACOLOGIQUES

Les études pharmacologiques ont été effectuées dans le cadre de l'épreuve comportementale de discriminations spatiales contextuelles sérielles. L'objectif était d'évaluer l'implication de diverses voies de signalisation dans la modulation des processus de restitution mnésique par le stress. Les molécules utilisées, leurs actions pharmacologiques ainsi que les conditions d'injection sont détaillées dans le tableau ci-après.

Molécule	Action pharmacologique	Doses injectées (mg/kg)	Délai d'injection avant le test	Solvant de dilution	Voie d'injection
<u>Physostigmine</u> SIGMA	Inhibiteur de la cholinestérase Augmente la transmission cholinergique	0.05 et 0.1	20 minutes	Nacl	IP (0.1 ml/10g)
<u>β CCM</u> (methyl β-carboline-3-carboxylate) RBI	Agoniste inverse des récepteurs GABA/ BDZ inhibe la transmission Gabaergique	0.5 et 1.5	30 minutes	1 goutte de Hcl 0.1 N dilué dans du Nacl (pH ajusté à 6.5)	IP (0.1 ml/10g)
<u>Metirapone</u> (2-methyl-1,2-di-3-pyridyl-1-propanone) ALDRICH	Inhibiteur de la 11-β-hydroxylase inhibe la synthèse de corticostérone	35	30 minutes	Ethanol 95 : 5% Nacl : 95%	IP (0.1 ml/10g)

#### IV. CONTRÔLE HISTOLOGIQUE

Dans les expériences impliquant des souris cérébro-lésées, les animaux sont sacrifiés par injection d'une dose létale d'anesthésique puis sont décapités. Les cerveaux sont prélevés et placés dans une solution de formaldéhyde (10%) pendant 15 jours ; ils sont alors transférés dans une solution de formol (10%)-saccharose (30%) pendant 48 heures, puis sont coupés en tranches de 60 μm d'épaisseur au microtome à congélation (-35°C). Les coupes sont ensuite montées sur des lames gélatinées, puis colorées à la thionine. Après montage d'une lamelle, les coupes sont observées au microscope afin de vérifier l'emplacement et l'étendue des lésions.

##### Remarque : les limites de l'approche lésionnelle

La méthode des lésions cérébrales suppose l'existence de relations univoques et stables entre structures cérébrales et fonctions. Elle suppose aussi qu'il est possible de léser sélectivement et définitivement une structure bien définie. Or, ces conditions sont rarement satisfaites. En effet, même si la lésion est

circonscrite dans l'espace, elle peut entraîner des modifications à distance par dégénérescence transneuronal, par rupture des équilibres ioniques ou par altération de la circulation cérébrale. Les effets de la lésion dans le temps ne sont pas non plus localisés : le tissu lésé présente des réactions (prolifération gliale, œdème...) qui peuvent évoluer pendant de longues périodes (Schoenfeld et Hamilton, 1977) et pourraient être responsables de certains effets de la lésion. Ainsi, les modifications du milieu cérébral provoquées par une lésion ne sont pas strictement localisées et peuvent évoluer considérablement pendant la période postopératoire. Des effets extérieurs au tissu neuronal (prolifération gliale, rupture des équilibres ioniques extracellulaires) peuvent moduler l'activité des éléments intacts. Une partie des atteintes du tissu neuronal peut être effacée par régénérescence ou par formation de nouvelles connexions à partir d'afférences intactes d'origine différente (Ostberg et al, 1976) . Toutes ces données indiquent qu'il est difficile de reconstituer le fonctionnement du cerveau normal à partir du fonctionnement du cerveau lésé. Le comportement de l'organisme lésé ne se caractérise pas seulement par la modification quantitative d'une fonction, mais aussi par de nouvelles stratégies qui tendent à compenser le déficit initial : il reflète donc autant les fonctions des structures intactes (non lésées) que celles de la structure détruite. Le processus normal d'une fonction, interrompu par une lésion, ne peut être qu'inféré. Malgré ces limites, l'approche lésionnelle paraît parfaitement adaptée pour une étude neuropsychologique de certaines pathologies ou traumatismes dans lesquels une ou plusieurs lésions cérébrales sont en cause ( Ex : syndrome de Korsakoff) : elle permet de modéliser, de comprendre la pathologie, d'étudier les phénomènes de réorganisation cérébrale consécutifs à la lésion pathologique ou traumatique, et éventuellement d'aborder les moyens possibles de traiter cette pathologie (greffes, pharmacologie...). Ce type d'approche s'avère également très utile quand

il s'agit de spécifier ou prouver l'implication dans un comportement de certaines structures cérébrales, déjà pressenties par le biais d'approches plus globales et intégrées (de type IRM...). Enfin, l'approche lésionnelle peut permettre d'affiner la compréhension des relations anatomiques entre structures cérébrales, dans le cadre de tâches comportementales très étudiées et dont la « circuiterie » sous-jacente est déjà relativement bien établie (ex : conditionnement aversif). En revanche, et pour les diverses raisons citées ci-dessus, l'approche lésionnelle se révèle un outil délicat à manier lorsqu'il s'agit d'étudier les processus cérébraux impliqués dans une tâche cognitive relativement peu étudiée et dont on connaît mal encore les substrats neurobiologiques sous-jacents. De ce fait, pour l'étude des processus neurobiologiques associés à la tâche de discriminations spatiales contextuelles sérielles nous avons opté pour l'analyse immunohistochimique de l'expression de la protéine Fos, méthode non invasive permettant une approche pionnière, globale et intégrée des mécanismes neuronaux, concomitants de cette tâche comportementale nouvellement mise au point.

## V. ETUDES IMMUNOHISTOCHIMIQUES

### **A. LES GÈNES PRÉCOCES**

Les gènes précoces sont des gènes dont la transcription transitoire est induite dans les quelques minutes qui suivent la stimulation neuronale. Le rôle des protéines (qui sont des facteurs de transcription) codées par ces gènes est de stimuler ou réprimer d'autres gènes dits tardifs (gènes cibles) qui sont impliqués dans les réponses phénotypiques à long terme. Les gènes précoces peuvent être activés par un grand nombre de stimuli différents comme les stimulations sensorielles périphériques (Hunt et al, 1987 ; Sallaz et Jourdan, 1993), l'hypoxie (Teppema et al, 1997) et l'ischémie (Kumar et al, 1996), les lésions cérébrales locales (Haas et al, 1999), le stress (Sharp et al, 1991), un apprentissage

(Radulovic et al, 1998 ; Sotty et al, 1996) ou encore les agents pharmacologiques (Niles et al, 1997). Le marquage des ARNm ou des protéines issues de ces gènes permet donc de détecter les zones cérébrales activées par ces stimuli (Dragunow et Faull, 1989). Ces ARNm et protéines sont donc des marqueurs génomiques. Il existe différentes familles de gènes précoces. Nous nous sommes intéressés à la famille des gènes Fos et plus particulièrement à la protéine codée par le gène *c-fos*. En effet, dans la majorité des types cellulaires, le niveau basal d'ARNm *c-fos* et de la protéine qu'il code est relativement faible, mais il est augmenté de manière transitoire par l'activation neuronale, ce qui en fait un bon marqueur de l'activité cérébrale (Sagar et al, 1988 ; Hoffman et al, 1993). La protéine Fos a un poids moléculaire de 62 kDa. Elle s'associe à une protéine d'un poids moléculaire de 39 kDa, issue de l'expression de gènes précoces de la famille *jun*, pour former des hétérodimères stables appelés AP1 (Activator Protein 1). Ces hétérodimères AP1 vont alors permettre le contrôle de l'expression de gènes cibles possédant dans leur séquence régulatrice d'ADN le site AP1 (Curran et Franza Jr, 1988). Le pic d'expression de la protéine Fos se situe entre 60 et 120 minutes après l'exposition à un facteur d'induction.

Le but de cette étude immunohistochimique était d'étudier l'influence d'un stress aigu (chocs électriques) sur l'activité de structures cérébrales impliquées dans l'épreuve de discriminations spatiales contextuelles sérielles effectuée dans la boîte à 4 trous, chez la souris normale ou alcoolisée. Cet outil devra cependant être manipulé avec précautions. En effet, certaines régions n'expriment pas ou peu la protéine Fos (Dragunow et Faull, 1989). De plus, l'expression de Fos étant un phénomène sensible, la simple manipulation des animaux, les injections périphériques et toute forme de stress sont susceptibles de l'induire de manière non spécifique. Ces différents points soulignent tout d'abord la nécessité de ne pas conclure à une absence d'activation lorsqu'une

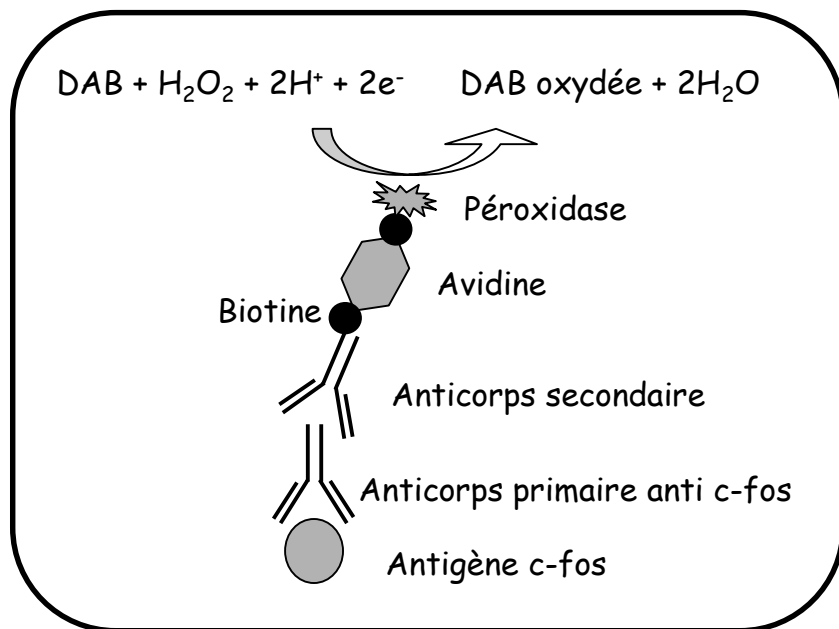


Figure II.5 : Principales étapes du marquage de la protéine Fos

structure cérébrale n'exprime pas la protéine Fos. Par ailleurs, pour éviter toute induction artéfactuelle, les animaux ont été manipulés quotidiennement 4 jours avant l'expérience afin de réduire au minimum le stress lié à la présence de l'expérimentateur.

## **B. MARQUAGE IMMUNOHISTOCHEMIQUE**

### **1. Préparation des coupes**

Une heure et demie après la fin du test de discriminations spatiales contextuelles sérielles, les animaux sont anesthésiés par injection intrapéritonéale de tribromoéthanol (Avertin<sup>®</sup>, Sigma) puis sont perfusés par voie intracardiaque avec 100 ml de sérum physiologique (NaCl à 0,9%) pour éliminer le sang, puis avec 100 ml de paraformaldéhyde (Sigma) à 4% pour fixer les tissus. Les cerveaux sont alors prélevés et post-fixés à 4°C pendant une nuit dans du paraformaldéhyde à 4%. Ensuite les cerveaux sont placés 24 heures dans une solution de saccharose à 30% avant d'être coupés au microtome à congélation. Les coupes d'une épaisseur de 50  $\mu\text{m}$  sont conservées dans du tampon phosphate 0,1 M additionné d'azide de sodium.

### **2. Réactions immunohistochimiques (Cf. figure II.5)**

Toutes les étapes du marquage sont effectuées sur les coupes flottantes. Entre chaque étape, les coupes sont rincées avec du tampon phosphate 0,1 M, chaque bain durant 5 minutes. Après 4 rinçages, les coupes sont incubées en présence d'un anticorps primaire polyclonal de lapin anti Fos (Calbiochem), pendant 24 heures, à température ambiante. Cet anticorps reconnaît les résidus 4 à 17 de la protéine Fos. L'anticorps est dilué (1/20 000) dans du sérum de chèvre (Life Technologies) contenant 0,1% de sérum albumine bovine (stabilisateur) et 0,2% de triton X100 (détergeant doux qui facilite la



pénétration de l'anticorps dans les cellules). A la fin de l'incubation, les coupes sont rincées 4 fois avant d'être incubées avec un anticorps de chèvre anti IgG de lapin (Jackson ImmunoResearch), à la dilution 1/2000, dans le même sérum que pour l'anticorps primaire. L'anticorps secondaire de chèvre est associé à la biotine. L'incubation se fait à température ambiante pendant 2 heures. Après 4 rinçages, les coupes sont incubées pendant 2 heures à température ambiante avec le complexe avidine-biotine-peroxidase (kit Vectastain<sup>®</sup> ABC, Vector Laboratories). L'avidine est une glycoprotéine qui possède une très forte affinité pour la biotine, vitamine de faible poids moléculaire, ainsi que quatre sites de fixation pour cette molécule. La peroxydase, enzyme qui intervient dans la réaction chromogène, est fixée à la biotine. L'utilisation du complexe avidine-biotine permet l'amplification du marquage. Les coupes sont ensuite rincées (4 rinçages) avant d'être incubées en présence du chromogène diaminobenzidine (DAB, 0,5 mg/ml, Sigma) pendant 8 minutes, à température ambiante. L'ajout de quelques gouttes d'eau oxygénée dans chaque puits déclenche l'oxydation de la DAB, qui provoquera l'apparition de la couleur brune dans le noyau des neurones exprimant la protéine Fos. La réaction chimique est interrompue par le rinçage des coupes au tampon phosphate.

Les coupes sont de nouveau rincées 4 fois avant d'être montées sur lames gélatinées. Après dessiccation à l'air libre (24 heures), elles sont déshydratées selon le protocole ci-dessous puis recouvertes d'une lamelle:

- 1 min dans de l'alcool à 70%
- 1 min dans de l'alcool à 95%
- 2 x 3 min dans de l'alcool à 100%
- 2 x 3 min dans du toluène

### 3. Comptage des cellules immunoréactives

Le comptage manuel des neurones ayant exprimé la protéine Fos s'avère subjectif et difficilement reproductible. Cette constatation nous a conduit à élaborer une technique de comptage automatique, objective, indépendante de la qualité du marquage ou de la coupe et parfaitement reproductible. Pour cela, nous avons utilisé un système d'analyse d'image constitué

- d'un microscope optique (Olympus BX 50) dont la platine permet un repérage bidimensionnel des coupes, relié à une caméra (SONY DXC-950P)
- d'un ordinateur équipé du logiciel d'analyse d'image Biocom visiol@b 2000

En collaboration avec B. Bontempi (CR, CNRS) et les ingénieurs de la société Biocom, nous avons créé une macro-commande informatique effectuant un traitement de l'image brute originelle par une série de filtres successifs et permettant ainsi la détection et la sélection automatique de toutes les cellules dont l'intensité de coloration est supérieure au seuil établi.

1- L'image d'origine est en couleur

2- Après acquisition, l'image est transformée en image en noir et blanc

3- Les petits objets ( inférieurs aux dimensions d'un noyau immunoréactif ) sont éliminés

4- On ajuste le seuil de détection minimum ( $S_{min}$ ) et maximum ( $S_{max}$ )

5- l'image est alors binarisée : tous les pixels dont le niveau de gris est strictement inférieur à  $S_{min}$  ou strictement supérieur à  $S_{max}$  sont

transformés en pixels noirs (le fond) et les autres sont transformés en pixels blancs (les noyaux immunoréactifs).

6- Les trous contenus dans les objets blancs sont remplis

7- les objets blancs sont ensuite découpés si nécessaire, ce qui permet de séparer les objets disposés en amas

8- un filtre de fermeture est alors appliqué et permet de fermer les objets blancs c'est à dire de réunir deux bords proches mais disjoints.

9- enfin, le dernier filtre appliqué à l'image est une « érodé ultime » qui réduit chaque objet blanc à un pixel.

10- l'ordinateur calcule alors le nombre de pixels sur l'image qui correspond au nombre de noyaux immunoréactifs.

Pour chaque structure et pour chaque animal, la quantification est réalisée sur les deux hémisphères (pour les structures paires), sur 2 à 3 coupes adjacentes (lorsque la taille de la structure le permet). La moyenne du nombre de cellules Fos positives est calculée pour chaque hémisphère et elle est exprimée en nombre de noyaux immunoréactifs par  $\text{mm}^2$ . Après vérification statistique de l'absence de différences significatives entre les deux hémisphères, la moyenne des cellules Fos positives pour chaque structure est utilisée pour l'analyse statistique.

## VI. DOSAGE DE LA CORTICOSTÉRONE PLASMATIQUE

La corticostérone plasmatique est quantifiée par dosage radioimmunologique (radioimmuno assay ou RIA). Cette méthode a été développée grâce aux travaux de Yalow et Berson sur l'insuline en 1956 et a supplanté par sa rapidité et sa

sensibilité les dosages biologiques ou chimiques. La sensibilité est de l'ordre du ng/ml de plasma. Appliquée d'abord aux hormones polypeptidiques, elle a été ensuite étendue aux hormones thyroïdiennes puis aux stéroïdes.

## A. PRINCIPE

Cette méthode, comme la plupart des techniques immunochimiques, est basée sur l'utilisation d'anticorps agissant comme sondes spécifiques pour identifier et mesurer des antigènes. Dans le RIA, la formation du complexe antigène-anticorps (Ag-Ac) n'est pas visualisable directement, mais au moyen d'un isotope radioactif fixé par une liaison covalente à l'un des deux partenaires de la réaction Ag-Ac (ici l'Ag). Cet artifice permet d'obtenir une amplification telle que les molécules deviennent perceptibles à de très faibles concentrations. Un tel dosage est réalisé selon le principe de liaison compétitive, c'est à dire que la quantité inconnue d'hormone à doser (hormone froide) dans l'extrait plasmatique prélevé est déterminée par sa capacité à déplacer l'hormone radioactive (corticostérone triciée,  $^3\text{H}$  corticostérone) de son complexe (Hormone radioactive-Anticorps spécifique), par référence à la courbe étalon. Le dosage ne peut être validé que si l'anticorps (Anti corticostérone, ICN Pharmaceuticals) est spécifique de l'hormone à doser et si le marquage radioactif de l'hormone ne modifie pas sa capacité de liaison avec l'anticorps spécifique.

## B. PROCÉDURE EXPÉRIMENTALE

À l'issue de l'essai de rétention de l'épreuve de discriminations contextuelles sérielles, les animaux sont décapités et le sang est collecté dans des tubes imprégnés D'EDTA (anticoagulant). Les échantillons sanguins sont centrifugés à 3000 tours/minutes pendant 10 minutes puis le surnageant est prélevé. Le dosage de corticostérone plasmatique est effectué en double par Radio Immuno

Assay à l'aide d'un kit commercial (ICN Biomedicals). Le dosage est réalisé au moyen d'un compteur à scintillation.

## **VII. ANALYSES STATISTIQUES**

Dans la plupart des expériences menées, les performances comportementales des animaux sont exprimés en pourcentage de réponses correctes (%). Ce sont des valeurs qui suivent une loi statistique binomiale, auxquelles il n'est pas possible d'appliquer les tests statistiques classiques. Nous les avons donc transformées selon la formule mathématique suivante :

$$\text{Valeur normalisée} = \text{Arc Sin} (\sqrt{\%})$$

Ce qui nous a permis d'utiliser les tests statistiques applicables aux populations normales.

Les comparaisons entre groupes sont effectuées par analyse de variances (ANOVA) à un ou plusieurs facteurs, pour mesures répétées ou non selon le cas. Cette analyse est suivie d'un test statistique d'analyse post-hoc, le test de Bonferroni/Dunn, permettant la comparaison deux à deux des données de tous les groupes expérimentaux.

Nous avons réalisé un test t de Student pour groupe unique pour comparer les performances moyennes par rapport à une moyenne théorique (par exemple le hasard).

Les données immunohistochimiques ou les concentrations de corticostérone plasmatique ne subissent pas de transformation. Les comparaisons entre groupes sont réalisées grâce à une ANOVA factorielle, suivie du test post-hoc de Bonferroni/Dunn pour les comparaisons deux à deux.

# Chapitre III

REPONSE EMOTIONNELLE CONDITIONNEE

## INTRODUCTION

Nous avons précisé en introduction générale que l'alcoolisation chronique provoque chez la souris un déficit mnésique portant essentiellement sur la phase de restitution. Parallèlement, ces animaux présentent des perturbations de nature émotionnelle qui se caractérisent par une réduction des réactions de peur en milieu anxiogène par rapport à des animaux témoins. Comme nous l'avons précisé, il est possible de restaurer des performances mnésiques normales, chez les animaux alcoolisés, par injection de molécules anxiogènes telles que la Méthyl- $\beta$ -Carboline. De la même façon, il est possible d'induire chez l'animal normal un déficit mnésique comparable à celui des souris alcoolisées par injection d'une molécule anxiolytique telle que le Diazépam. De plus, certains travaux chez l'homme montrent que la valeur émotionnelle des informations à retenir est un facteur important dans la mesure où les informations dotées d'une composante émotionnelle sont mieux retenues ou évoquées par les sujets alcooliques que celles qui sont neutres (Oscar-Berman, 1984). L'ensemble de ces données suggère l'existence de relations étroites entre processus mnésiques et processus émotionnels chez l'homme comme chez l'animal. L'hypothèse formulée est que le fonctionnement de ces relations pourrait être perturbé chez les souris alcoolisées et que cette perturbation pourrait être à l'origine du déficit mnésique observé.

Les données que nous venons d'évoquer ont été obtenues dans un protocole d'alternance spontanée dans un labyrinthe en T qui constitue une épreuve relativement "neutre" d'un point de vue émotionnel. Dans ces expériences, la dimension émotionnelle est appréhendée uniquement au moyen de l'outil pharmacologique (utilisation de molécules anxiogènes ou anxiolytiques).

Cependant, il existe des épreuves mnésiques, qui impliquent cette dimension émotionnelle et ne nécessitent donc pas nécessairement le recours à l'outil pharmacologique. C'est le cas notamment de la procédure classique de conditionnement aversif, dans laquelle l'animal est placé dans une cage de conditionnement où il entend un son bref, immédiatement suivi d'un choc électrique aux pattes. Cette procédure déclenche une réponse émotionnelle conditionnée (REC) ou réponse de peur lorsque l'animal est replacé ultérieurement dans les mêmes conditions sans recevoir le choc électrique. La REC témoigne de l'apprentissage de l'expérience aversive passée. Cette épreuve présente plusieurs avantages majeurs :

- D'abord, c'est une expérience mnésique aversive, elle intègre donc les dimensions mnésiques et émotionnelles.
- De plus, c'est une expérience qui permet d'appréhender différents degrés de « charge émotionnelle ». En effet, elle permet de mesurer deux types de réponse émotionnelle conditionnée, une REC au son (REC auditive) et une REC au contexte général dans lequel s'est déroulée l'expérience (REC contextuelle). Le son étant directement prédictif de l'occurrence du choc électrique, sa valeur aversive est forte. Le contexte est secondairement associé au choc et de ce fait, il est moins prédictif de l'occurrence du choc électrique que le son, sa valeur aversive est donc moindre. Ce protocole nous permet donc d'étudier la restitution de deux informations de valences émotionnelles différentes selon l'importance de la REC obtenue en réponse au son (stimulus conditionnel) ou au contexte.
- Enfin, la littérature concernant le conditionnement aversif est abondante et, même s'il existe des points de désaccords, les circuits cérébraux impliqués dans cette épreuve, commencent à être éclaircis (LeDoux, 1993).



Parallèlement, les données de la littérature n'établissent pas clairement quelles sont les atteintes cérébrales responsables du déficit mnésique lié à la consommation chronique d'alcool. Certains auteurs mettent en cause l'atteinte des corps mamilaires de l'hypothalamus (Lhermitte et Signoret, 1972 ; Mair et al, 1979 ; Brion et al, 1985), d'autres études soulignent l'importance de la lésion du noyau thalamique médiodorsal (Squire et Moore, 1979 ; Victor et al, 1989), ou du noyau antérieur du thalamus dans l'apparition de l'amnésie (Aggleton et Sahgal, 1993 ; Halliday et al, 1994) alors que celles de l'hippocampe sont très discutées.

Dans le cadre général que nous venons d'exposer, l'expérience de conditionnement aversif que nous avons réalisée avait plusieurs objectifs :

- Déterminer, dans une expérience comportant une composante émotionnelle marquée, si l'alcoolisation chronique provoque ou non un déficit de restitution mnésique comparable à celui observé dans l'alternance spontanée (Cf. Introduction).
- Caractériser les atteintes neurobiologiques susceptibles d'être à l'origine du déficit mnésique des souris alcoolisées en pratiquant la lésion expérimentale des différentes structures incriminées dans l'amnésie alcoolique (Corps mamilaires ou thalamus antérieur) et impliquées dans la REC (hippocampe) chez la souris normale.

## I. PROCEDURE EXPERIMENTALE

### A. PROTOCOLE (Cf. Figure III.1)

La procédure se déroule sur 2 jours consécutifs : le premier jour consiste en

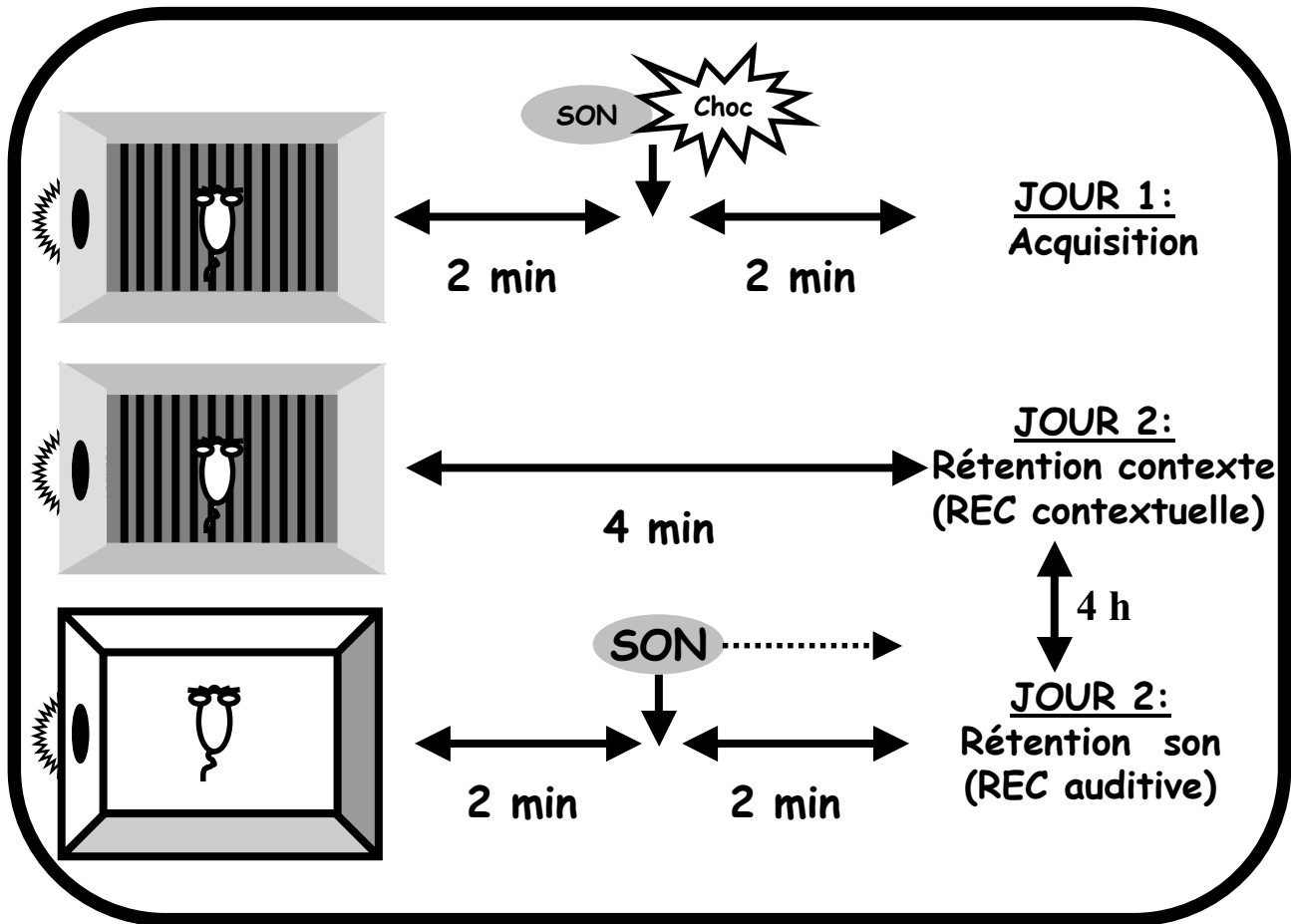


Figure III.1: Procédure expérimentale de l'expérience de réponse émotionnelle conditionnée

l'acquisition de la réponse émotionnelle conditionnée, le deuxième jour étant consacré à l'évaluation des REC contextuelle puis auditive.

JOUR 1 : *Phase d'acquisition du conditionnement* : la souris est placée dans la cage de conditionnement pour une phase d'exploration de 2 minutes. Cette phase permet de mesurer l'activité exploratoire spontanée préalable au conditionnement. De plus, le délai de 2 minutes intercalé entre le placement de l'animal et le conditionnement est nécessaire afin d'éviter le phénomène décrit sous le terme « immediate shock deficit » (Fanselow, 1990) désignant une absence de REC contextuelle observable lorsque l'animal est conditionné immédiatement après son entrée dans l'appareil. Un son est alors délivré pendant 4 secondes (1000 Hz ; 60 Db), immédiatement suivi d'un choc électrique aux pattes ( 0.9 mA ; 2 sec). L'animal demeure dans l'appareil pendant 2 minutes supplémentaires puis il est replacé dans sa cage habituelle à l'animalerie. Le retour à l'animalerie immédiatement après le conditionnement est important puisqu'il a été montré que le simple fait d'isoler l'animal dans un environnement nouveau après la phase de conditionnement réduisait la REC contextuelle (Rudy, 1996).

JOUR 2 : *Phase de rétention* : On évalue successivement la REC contextuelle puis, 4 heures plus tard, la REC auditive.

REC contextuelle : l'animal est placé dans la cage de conditionnement utilisée lors de l'acquisition pour une durée de 4 minutes au cours desquelles on mesure le «freezing» en réponse au contexte de conditionnement.

REC auditive : l'animal est placé pendant 4 minutes dans une nouvelle cage, de dimensions similaires à la cage de conditionnement, mais de couleur différente et dont le plancher est constitué d'une plaque lisse en Plexiglas opaque. L'activité

locomotrice de l'animal est mesurée pendant les 2 premières minutes précédant l'émission du son ( phase pré-CS ) puis un son identique à celui délivré lors de l'acquisition est émis pendant les 2 dernières minutes de l'épreuve au cours desquelles on mesure le «freezing» en réponse au son ( phase CS ).

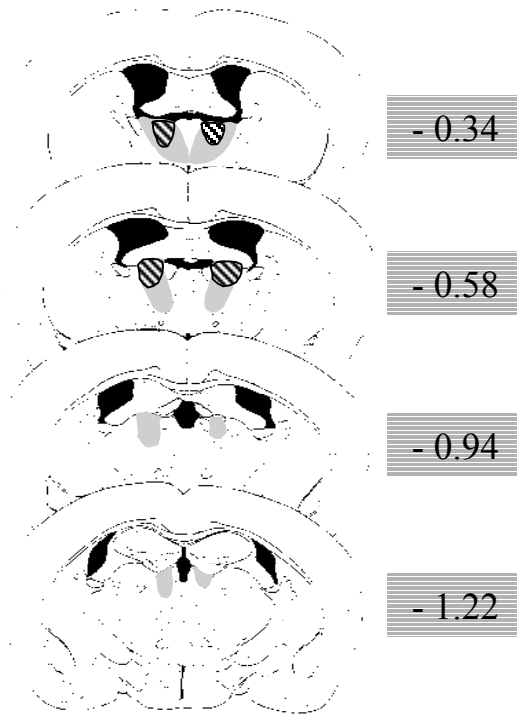
Tous les animaux subissent l'intégralité de ce protocole mais les souris non-conditionnées ne reçoivent pas le choc électrique lors de l'acquisition.

## **B. CONSTITUTION DES GROUPES EXPERIMENTAUX**

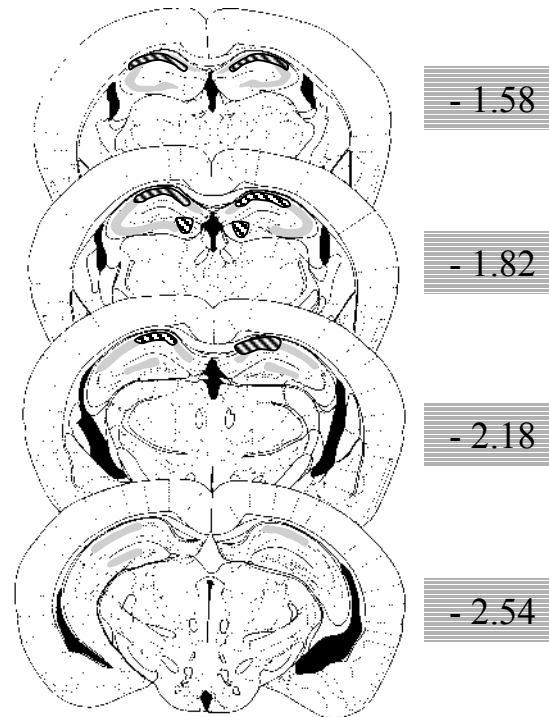
L'expérience d'étude de la REC implique 6 groupes expérimentaux différents :

- Un groupe de souris porteuses d'une lésion de l'hippocampe (HPC)
- Un groupe de souris porteuses d'une lésion du thalamus antérieur (THA)
- Un groupe de souris porteuses d'une lésion des corps mamillaires de l'hypothalamus (CM)
- Un groupe de souris témoins constitué d'animaux pseudo-lésés et d'animaux non opérés, âgés de 4 à 5 mois. Dans la mesure où aucune différence comportementale n'a été observée, les données de ces 2 groupes témoins ont été regroupées pour l'analyse statistique (TEMOINS)
- Un groupe de souris soumises au protocole d'alcoolisation chronique pendant 12 mois et âgés de 18 mois (ALCOOL)
- Un groupe de souris témoins des animaux alcoolisés, constitué d'animaux âgés de 18 mois soumis au régime « alimentation appariée» (« amisol » ou « eau », Cf. méthodologie). Dans la mesure où aucune différence comportementale n'a

## Lésions thalamiques



## Lésions hippocampiques



## Lésions mamillaires

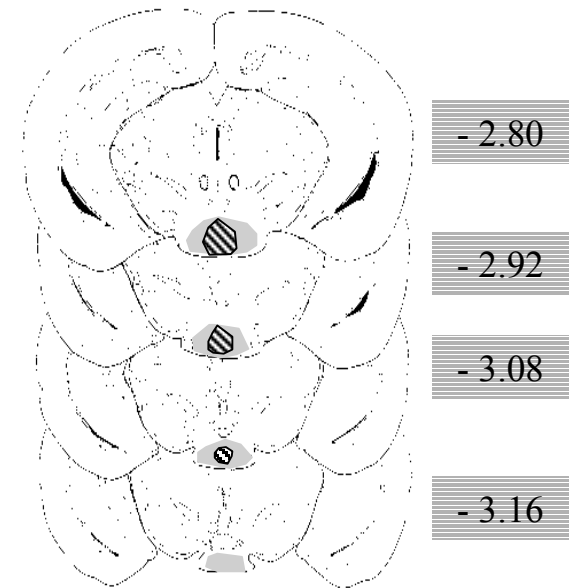
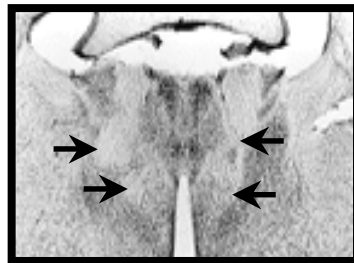
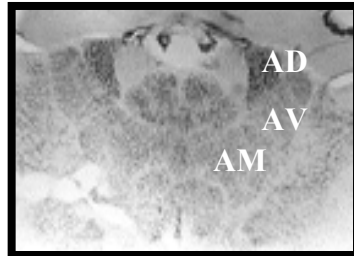
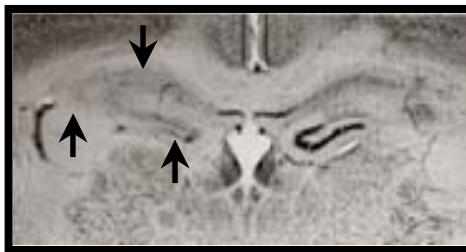
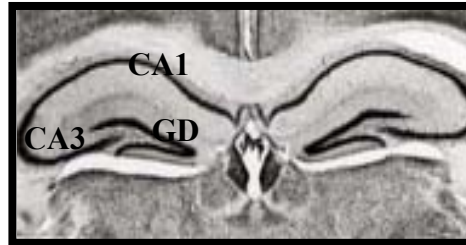


Planche histologique III.2: Reconstruction de l'étendue maximale (en grisé) et de l'étendue minimale (en hachuré) des lésions thalamiques, hippocampiques et mamillaires respectivement, sur une série de coupes cérébrales transversales. Les valeurs numériques encadrées en gris correspondent à la distance en mm par rapport au bregma.

## Lésions thalamiques



## Lésions hippocampiques



## Lésions mamillaires

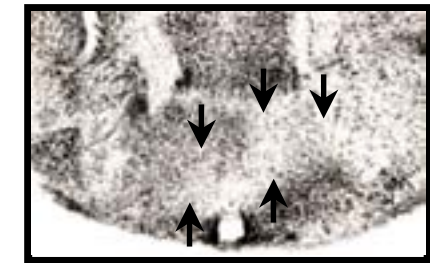
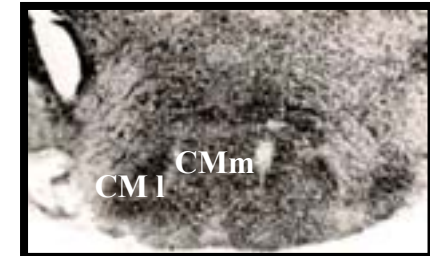


Planche histologique III.3: Photographies montrant l'emplacement et l'étendue des lésions thalamiques, hippocampiques et mamillaires respectivement (photographies du bas) en comparaison avec les animaux pseudo-lésés correspondants (photographies du haut). Les flèches noires indiquent les sites de pertes neuronales. AD: noyau thalamique antérodorsal; AV: noyau thalamique antéroventral; AM: noyau thalamique antéromédian; CA1 et CA3: champs ammoniques 1 et 3 de l'hippocampe; GD: gyrus dentelé; CMm: noyau mamillaire médian; CMl: noyau mamillaire latéral.

été observée, les données de ces 2 groupes témoins ont été regroupées pour l'analyse statistique (TEMOINS ALCOOL)

Les effectifs sont indiqués dans le tableau ci dessous :

<u>CONDITIONS</u> \ <u>GROUPES</u>	Témoin	HPC	THA	CM	ALCOOL	Témoin Alcool
Conditionnés	N=9	N=10	N=10	N=8	N=9	N=9
Non conditionnés	N=20	N=15	N=9	N=15	N=17	N=16

Les effectifs indiqués dans le tableau ci dessus ne mentionnent que les souris utilisées pour l'analyse statistique. Les souris éliminées à la suite des contrôles histologiques ne figurent pas dans le tableau.

## II. RESULTATS

### **A. CONTROLES HISTOLOGIQUES** (Cf. Planches histologiques III.2 et III.3)

*Lésions hippocampiques* : les lésions de l'hippocampe sont essentiellement situées dans la partie dorsale et affectent bilatéralement les champs CA1, CA2, plus partiellement le CA3. Le gyrus dentelé est également touché mais l'hippocampe ventral est intact.

*Lésions thalamiques* : les lésions thalamiques sont bilatérales et affectent essentiellement les noyaux antéromédian, antérodorsal et antéroventral du thalamus (environ 80% de pertes cellulaires pour chaque noyau).

*Lésions mamillaires* : les lésions des corps mamillaires sont essentiellement situées dans le noyau médian postérieur (environ 80 % de pertes cellulaires dans

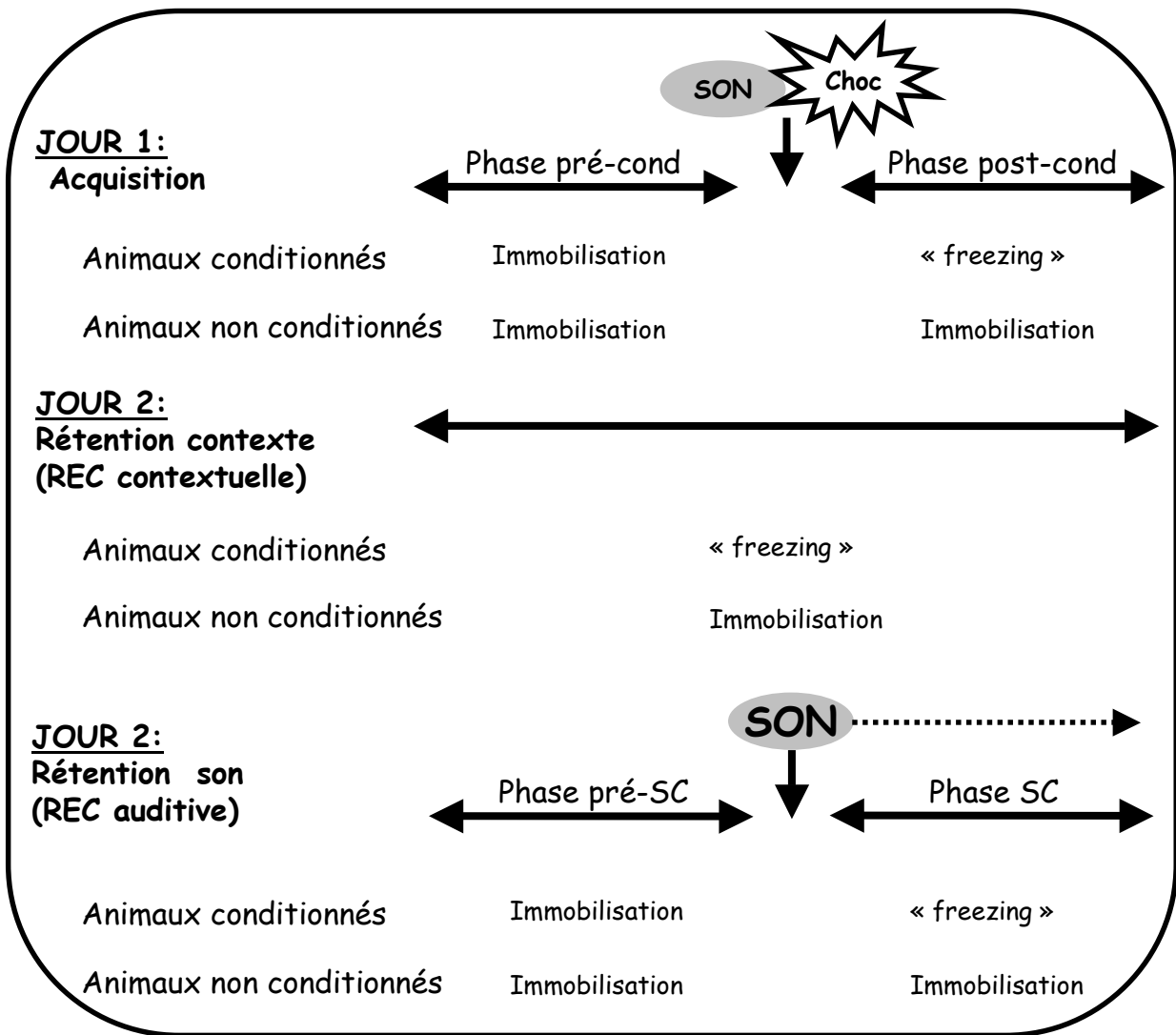


Figure III.4: terminologie



ce noyau). On observe également des lésions bilatérales moindres mais conséquentes (environ 50% de pertes cellulaires) des noyaux mamillaires latéraux.

Les animaux porteurs de lésions trop partielles, trop large ou unilatérales pour les structures paires ont été exclus de l'analyse statistique.

## **B. RESULTATS COMPORTEMENTAUX**

Dans l'exposé des résultats, nous utiliserons le terme « freezing » pour désigner la réaction d'immobilisation en réponse au choc, au son seul ou au contexte seul chez les animaux conditionnés uniquement. Nous utiliserons les termes « immobilisation » ou « immobilité » pour désigner l'immobilisation non spécifique chez les animaux non conditionnés ou chez les animaux conditionnés lors des phases précédant l'émission du son (Cf. Figure III.4).

### **1. Effets de l'alcoolisation chronique sur la REC**

*Cette analyse concerne les animaux alcoolisés (ALCOOL) et leurs témoins du même âge « régime appareillé » amisol ou eau (TEMOINS ALCOOL).*

#### a. Acquisition

Les variables que nous étudierons dans l'analyse statistique sont les suivantes :

- *Mesure répétée* : *temps d'immobilisation* pendant les 2 minutes précédant le conditionnement (phase pré-conditionnement) et *temps de freezing* pendant les 2 minutes suivant le conditionnement (phase post-conditionnement).
- Variable « *Conditions* » : animaux conditionnés (son + choc) versus animaux non conditionnés (son seul).
- Variable « *Groupes* » : souris TEMOINS ALCOOL versus souris ALCOOL.

Une analyse globale ANOVA avec mesure répétée indique un effet significatif de la mesure répétée ( $F(1,47) = 18.9 ; p < 0.0001$ ). En d'autres termes, on observe une augmentation significative du temps de freezing lors de la phase post-conditionnement par rapport à la phase pré-conditionnement. De plus, cette augmentation est significativement plus importante chez les animaux conditionnés que chez les animaux non conditionnés (interaction Mesure répétée X Conditions :  $F(1,47) = 10.9 ; p = 0.002$ ). En revanche, l'interaction Mesure répétée X Groupes n'est pas significative ( $p = 0.23$ ), ce qui signifie que les animaux ALCOOL ne diffèrent pas de leurs témoins lors de l'acquisition. De plus, l'analyse par une ANOVA factorielle portant sur chacune des deux phases de l'acquisition montre que les deux groupes expérimentaux présentent une activité exploratoire initiale et un temps d'immobilisation spontanée similaires ( $F < 1.0$ ) pendant la phase pré-conditionnement. En revanche, pendant la phase post-conditionnement, l'analyse globale montre que le temps de freezing est plus important chez les animaux conditionnés que chez les animaux non conditionnés (effet Conditions :  $F(1,47) = 14.4 ; p = 0.0004$ ), mais on n'observe aucune différence entre les Groupes ( $F(1,47) = 1.4 ; p = 0.25$ ) et l'interaction Groupes X Conditions n'est pas significative ( $F < 1.0$ ).

Considérés dans leur ensemble, ces résultats indiquent i) que l'alcoolisation chronique n'affecte ni les fonctions locomotrices et exploratoires spontanées, ni la réaction à la nouveauté puisqu'il n'y a aucune différence entre les groupes pendant la phase de pré-conditionnement ii) que l'alcoolisation chronique n'affecte ni la capacité de percevoir l'occurrence du choc électrique, ni celle de réagir à ce choc par du freezing. Il n'y a donc aucune différence entre les animaux ALCOOL et leurs témoins concernant la phase d'acquisition.

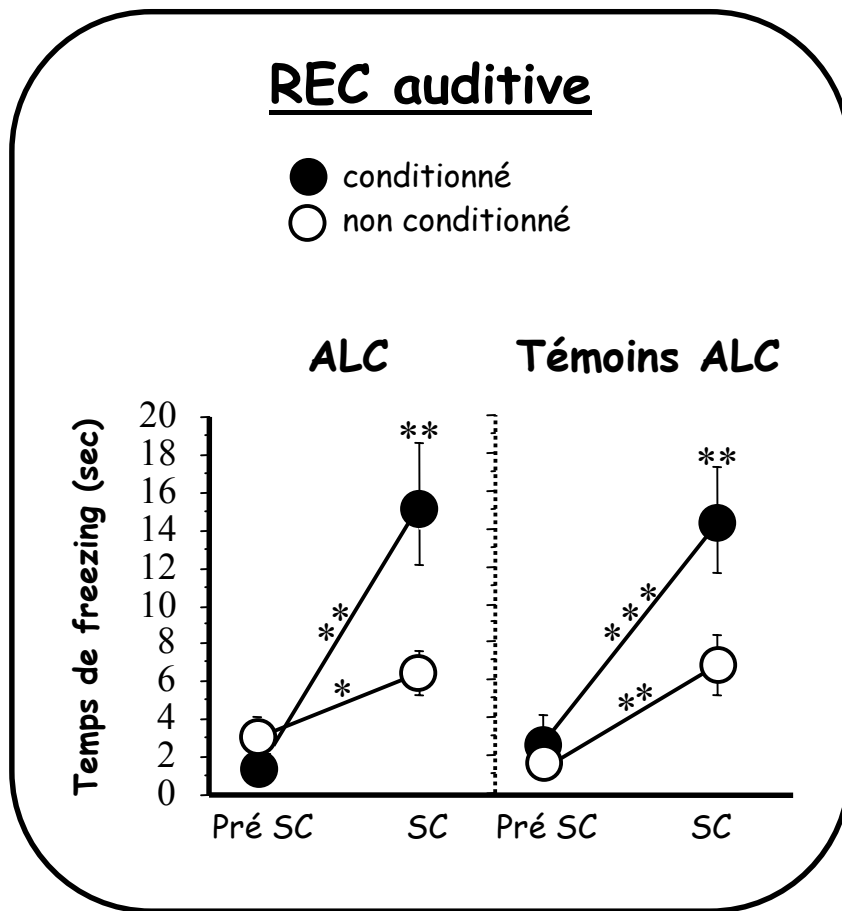


Figure III.5: effet de l'alcoolisation chronique sur la REC auditive

### b. Réponse émotionnelle conditionnée auditive (Cf. Figure III.5)

Les variables que nous étudierons dans l'analyse statistique sont les suivantes :

- *Mesure répétée*: *temps d'immobilisation* pendant les 2 minutes précédant l'émission du stimulus conditionnel sonore (phase pré-SC) et *temps de freezing* pendant les 2 minutes d'émission du SC (phase SC).
- Variable « *Conditions* » : animaux conditionnés versus animaux non conditionnés.
- Variable « *Groupes* » : souris ALC versus souris TEMOINS ALCOOL.

Une analyse globale par ANOVA avec mesure répétée indique une augmentation significative du temps de freezing pendant la phase SC par rapport à la phase pré-SC ( $F(1,47) = 65.2$  ;  $p < 0.0001$ ). L'interaction Mesure répétée X Conditions est significative ( $F(1,47) = 15.7$  ;  $p = 0.0003$ ) mais non l'interaction Mesure répétée X Groupe ( $F < 1.0$ ). Plus précisément, l'émission du son induit une augmentation significative du temps de freezing chez tous les animaux conditionnés (effet de la Mesure répétée : ALCOOL :  $F(1,8) = 19.2$  ;  $p = 0.0023$  et TEMOINS ALCOOL :  $F(1,8) = 27.3$  ;  $p = 0.0008$ ) comme chez tous les animaux non conditionnés (ALCOOL :  $F(1,16) = 4.7$  ;  $p = 0.045$  et TEMOINS ALCOOL :  $F(1,15) = 9.3$  ;  $p = 0.008$ ). Ce résultat indique que les animaux ALCOOL comme leurs témoins entendent le son et y réagissent par une immobilisation. Cependant, cette augmentation est significativement plus importante pour les animaux conditionnés que pour les animaux non conditionnés (Interaction Mesure répétée X Conditions :  $F(1,47) = 15.7$  ;  $p = 0.0003$ ). Ce résultat indique que tous les animaux ayant reçu le choc électrique lors de l'acquisition ont effectué l'association son-choc et répondent au son seul par un temps de freezing plus important que les animaux non conditionnés. De plus, une analyse par ANOVA

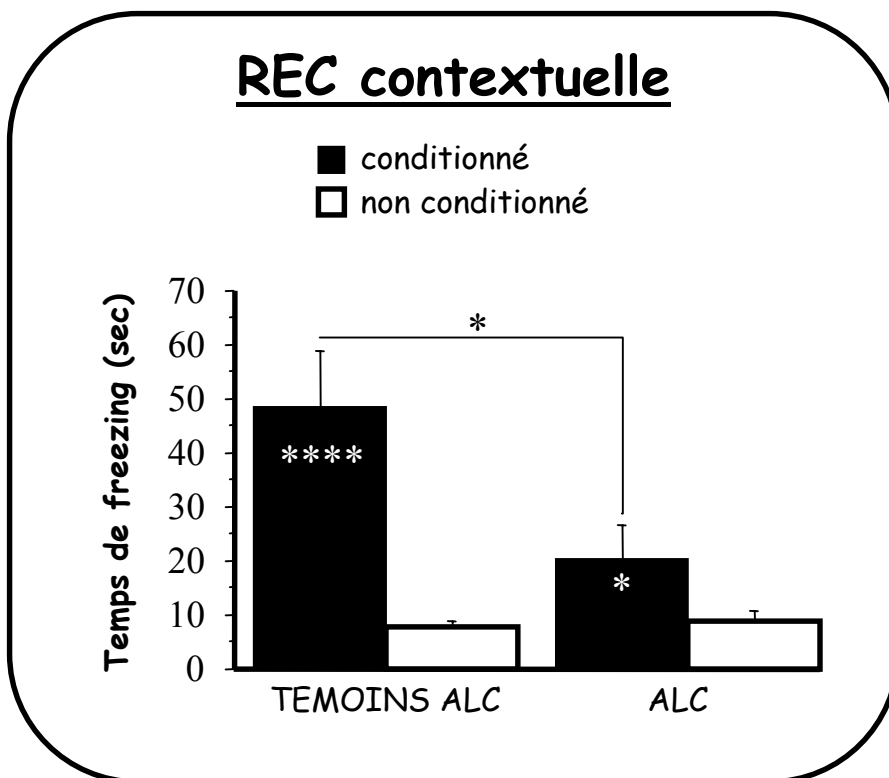


Figure III.6: effet de l'alcoolisation chronique sur la REC contextuelle

factorielle réalisée sur chacune des deux phases successives indique que pendant la phase pré-SC, il n'y a pas de différence entre les groupes ( $F < 1.0$ ) ou entre les conditions ( $F < 1.0$ ). L'interaction Groupes X Conditions n'est pas significative ( $F(1,47) = 2.75$  ;  $p = 0.1$ ). En revanche, pendant la phase SC, on observe un temps de freezing plus important pour les animaux conditionnés par rapport aux animaux non conditionnés (Conditions ;  $F(1,47) = 16.6$  ;  $p = 0.0002$ ). Il n'y a pas d'effet significatif de l'alcoolisation chronique (Groupes ;  $F < 1.0$ ) et l'interaction Groupes X Conditions n'est pas non plus significative ( $F < 1.0$ ). Cette analyse indique que le temps de freezing est identique pour les animaux conditionnés des deux groupes (TEMOINS ALCOOL ;  $14.5 \pm 2.8$  sec et ALCOOL ;  $15.4 \pm 3.2$  sec ;  $F < 1.0$ ) ainsi que pour les animaux non conditionnés des deux groupes (TEMOINS ALCOOL ;  $6.8 \pm 1.6$  sec et ALCOOL ;  $6.4 \pm 1.1$  sec ;  $F < 1.0$ ). La différence entre la situation conditionnée et la situation non conditionnée est significative pour chacun des deux groupes (TEMOINS ALCOOL :  $F(1,23) = 6.6$  ;  $p = 0.01$  et ALCOOL :  $F(1,24) = 10.3$  ;  $p = 0.004$ ). Aucune différence significative n'est observée entre les groupes non conditionnés.

Ces résultats suggèrent i) que tous les animaux entendent le son et y réagissent par une immobilisation, ii) que les deux groupes expérimentaux sont conditionnés au son et capables d'y répondre par du freezing, iii) que les animaux ALCOOL ne diffèrent pas de leur témoins en ce qui concerne la REC auditive.

### c. Réponse émotionnelle conditionnée contextuelle (Cf. Figure III.6)

On observe une différence significative entre les Groupes ( $F(1,47) = 8.4$  ;  $p = 0.0055$ ), entre les Conditions ( $F(1,47) = 32.8$  ;  $p < 0.0001$ ) et l'interaction Groupes X Conditions est également significative ( $F(1,47) = 10.15$  ;  $p = 0.003$ ). Plus précisément, les animaux alcoolisés conditionnés présentent une réduction significative du temps de freezing ( $20.5 \pm 6.0$  sec) par rapport aux animaux

témoins conditionnés ( $48.5 \pm 10.3$  sec ;  $F(1,16) = 5.54$  ;  $p = 0.03$ ). Les animaux conditionnés alcoolisés présentent néanmoins un temps d'immobilisation significativement supérieur à celui des animaux non conditionnés du même groupe ( $8.8 \pm 1.8$  sec ;  $F(1,24) = 5.6$  ;  $p = 0.02$ ). De même, les animaux témoins conditionnés présentent un temps de freezing significativement supérieur ( $48.6 \pm 10.3$  sec) à celui des animaux témoins non conditionnés ( $7.6 \pm 1.4$  sec ;  $F(1,23) = 27.5$  ;  $p < 0.0001$ ). Il n'y a pas de différence significative entre les groupes non conditionnés.

Pris tous ensembles, ces résultats indiquent que l'alcoolisation chronique réduit sans abolir totalement la REC contextuelle.

**Pour résumer, l'ensemble des résultats montre que l'alcoolisation chronique ne perturbe pas la REC auditive mais réduit significativement la REC contextuelle sans toutefois l'abolir complètement.**

## **2. Effets des lésions thalamique, hippocampique et mamillaire sur la REC**

*Cette analyse concerne les animaux lésés thalamiques (THA), hippocampiques (HPC), mamillaires (CM) et leurs témoins pseudo-lésés ou non opérés (TEMOINS).*

### **a. Acquisition**

Les variables que nous étudierons dans l'analyse statistique sont les suivantes :

- *Mesure répétée: temps d'immobilisation pendant les 2 minutes précédant le conditionnement (phase pré-conditionnement) et temps de freezing pendant les 2 minutes suivant le conditionnement (phase post-conditionnement).*
- *Variable « Conditions » : animaux conditionnés (son + choc) versus animaux non conditionnés (son seul).*

- Variable « *Groupes* » : souris TEMOINS versus THA versus HPC versus CM.

L'analyse globale par ANOVA en mesure répétée indique un effet significatif de la Mesure répétée ( $F(1,88) = 22.1$  ;  $p < 0.0001$ ). L'interaction Mesure répétée X Conditions est également significative ( $F(1,88) = 4.5$  ;  $p = 0.035$ ). En revanche, l'interaction Mesure répétée X Groupes n'est pas significative ( $p > 0.15$ ). En d'autres termes, pendant la phase de post-conditionnement, seuls les animaux conditionnés présentent un temps de freezing supérieur à la phase de pré-conditionnement ( $F(1,33) = 24.9$  ;  $p < 0.0001$ ). Pour les animaux non conditionnés, le temps d'immobilité n'évolue pas significativement ( $F(1,55) = 3.6$  ;  $p > 0.06$ ) entre la phase de pré-conditionnement et la phase de post-conditionnement. Ces résultats sont observés quel que soit le groupe considéré. De plus, l'analyse par ANOVA factorielle portant sur chacune des deux phases de l'acquisition montre que tous les groupes expérimentaux présentent une activité exploratoire "basale" et un temps d'immobilisation spontanée similaires ( $F < 1.0$ ) pendant la phase de pré-conditionnement. Lors de la phase de post-conditionnement, les animaux conditionnés présentent un temps de freezing sensiblement supérieur aux animaux non conditionnés (Conditions ;  $F(1,88) = 3.3$  ;  $p < 0.06$ ), mais on n'observe aucune différence entre les Groupes ( $p > 0.10$ ) et l'interaction Groupes X Conditions n'est pas significative ( $F < 0.1$ ). Aucune différence n'est observée entre les animaux non conditionnés lésés et leurs témoins ( $p > 0.10$ ).

Considérés dans leur ensemble, ces résultats indiquent i) que les lésions cérébrales n'affectent ni les fonctions locomotrices et exploratoires spontanées, ni la réaction à la nouveauté puisqu'il n'y a aucune différence entre les groupes pendant la phase de pré-conditionnement ii) que les lésions cérébrales n'affectent ni la capacité de percevoir l'occurrence du choc électrique, ni celle de réagir à ce choc par du freezing. Il n'y a donc aucune différence entre les



## REC auditive

● conditionnés  
○ non conditionnés

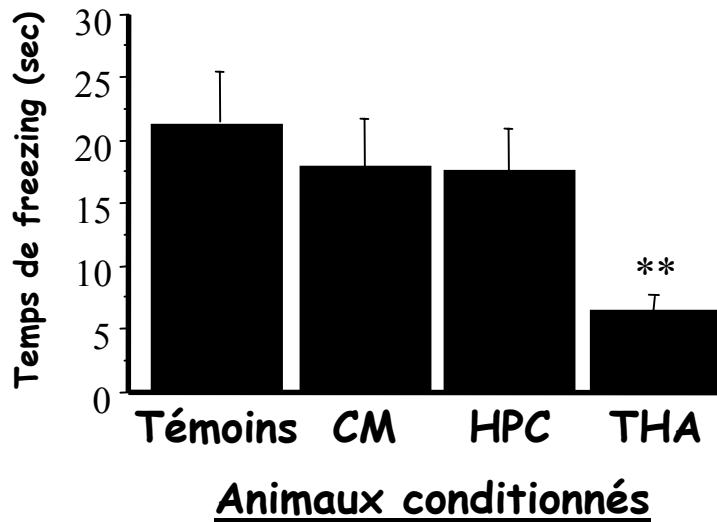
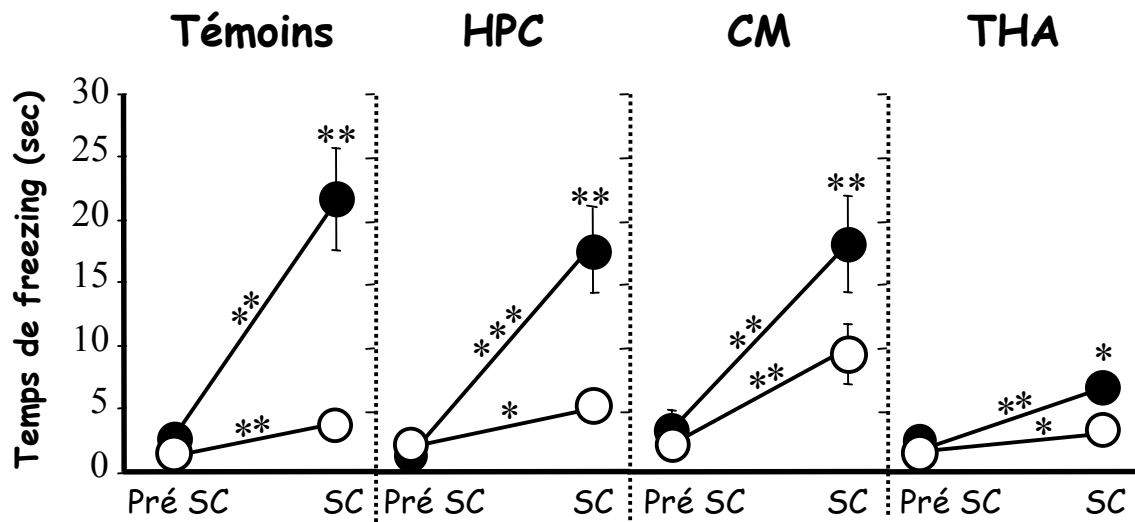


Figure III.7 : Effets des différentes lésions cérébrales sur la REC auditive

groupes concernant la phase d'acquisition iii) que le son n'induit pas de réaction d'immobilisation particulière, puisque le temps d'immobilisation des animaux non conditionnés (qui entendent le son mais ne reçoivent pas le choc électrique) ne varie pas entre les 2 phases.

#### b. Réponse émotionnelle conditionnée auditive (Cf. figure III.7)

Les variables que nous étudierons dans l'analyse statistique sont les suivantes :

- *Mesure répétée*: *temps d'immobilité* pendant les 2 minutes précédant l'émission du stimulus conditionnel sonore (phase pré-SC) et *temps de freezing* pendant les 2 minutes d'émission du SC (phase SC).
- Variable « *Conditions* » : animaux conditionnés versus animaux non conditionnés.
- Variable « *Groupes* » : souris TEMOINS versus THA versus HPC versus CM.

Une analyse globale ANOVA avec mesure répétée indique une augmentation significative du temps d'immobilisation pendant la phase SC par rapport à la phase pré-SC ( $F(1,88) = 137.9$  ;  $p < 0.0001$ ). L'interaction *Mesure répétée* X *Condition* est significative ( $F(1,88) = 43.7$  ;  $p < 0.0001$ ) ainsi que l'interaction *Mesure répétée* X *Groupe* ( $F(3,88) = 4.4$  ;  $p = 0.006$ ). Plus précisément, l'émission du son induit une augmentation significative du temps de freezing chez tous les animaux conditionnés (effet de la *Mesure répétée* : TEMOINS :  $F(1,8) = 22.6$  ;  $p = 0.0014$  ; HPC :  $F(1,9) = 30.7$  ;  $p = 0.0004$  ; CM :  $F(1,7) = 21.02$  ;  $p = 0.0025$  et THA :  $F(1,9) = 19,2$  ;  $p = 0.0018$ ) comme chez tous les animaux non conditionnés (TEMOINS :  $F(1,19) = 9.7$  ;  $p = 0.006$  ; HPC :  $F(1,14) = 4.8$  ;  $p = 0.04$  ; CM :  $F(1,14) = 11.9$  ;  $p = 0.004$  et THA :  $F(1,8) = 5.6$  ;  $p = 0.04$ ). Ce résultat indique que tous les animaux, même les groupes lésés, entendent le son et y réagissent par une immobilisation. Cependant, cette augmentation est

significativement plus importante pour les animaux conditionnés que pour les animaux non conditionnés (Interaction Mesure répétée X Conditions :  $F(1,88) = 43.7$  ;  $p < 0.0001$ ). Ce résultat indique que tous les animaux ayant reçu le choc électrique lors de l'acquisition ont effectué l'association son-choc et répondent au son seul par un temps de freezing plus important que les animaux non conditionnés. De plus, l'interaction Mesure répétée X Groupe n'est significative que pour les animaux conditionnés ( $F(1,33) = 3.88$  ;  $p = 0.015$ ) et non pour les animaux non conditionnés ( $F(1,55) = 2.15$  ;  $p = 0.1$ ). Le test post Hoc (Bonferroni/Dunn) indique que ce sont les animaux THA conditionnés qui présentent un temps de freezing significativement inférieur aux TEMOINS conditionnés ( $p = 0.002$ ). De plus, l'analyse ANOVA factorielle réalisée sur chacune des 2 phases successives indique que pendant la phase pré-SC, on n'observe aucune différence significative entre les Groupes ( $F(3,88) = 2.36$  ;  $p > 0.07$ ) ou entre les Conditions ( $F(1,88) = 1.01$  ;  $p = 0.3$ ) et l'interaction Groupes X Conditions n'est pas significative ( $F < 1,0$ ). En revanche, pendant la phase SC, on observe une augmentation significative du temps de freezing pour les animaux conditionnés par rapport aux animaux non conditionnés ( $F(1,88) = 41.5$  ;  $p < 0.0001$ ). On observe également une différence significative entre les Groupes ( $F(3,88) = 5.85$  ;  $p = 0.001$ ) et l'interaction Groupes X Conditions est aussi significative ( $F(3,88) = 2.9$  ;  $p = 0.03$ ). Les animaux conditionnés THA présentent un temps de freezing significativement inférieur à celui des animaux témoins conditionnés ( $6.3 \pm 1.3$  sec et  $21.2 \pm 4$  sec respectivement ;  $F(1,17) = 13.5$  ;  $p = 0.002$ ). Les animaux conditionnés THA diffèrent également des animaux conditionnés HPC et CM ( $p < 0.01$  dans les deux cas). Par contre, il n'existe aucune différence entre les témoins conditionnés et les animaux conditionnés HPC ( $17.6 \pm 3.3$  sec) ou CM ( $18 \pm 3.8$  sec) ( $p > 0.1$  dans les deux cas). Cependant, même si les animaux conditionnés THA présentent un temps de freezing très réduit par

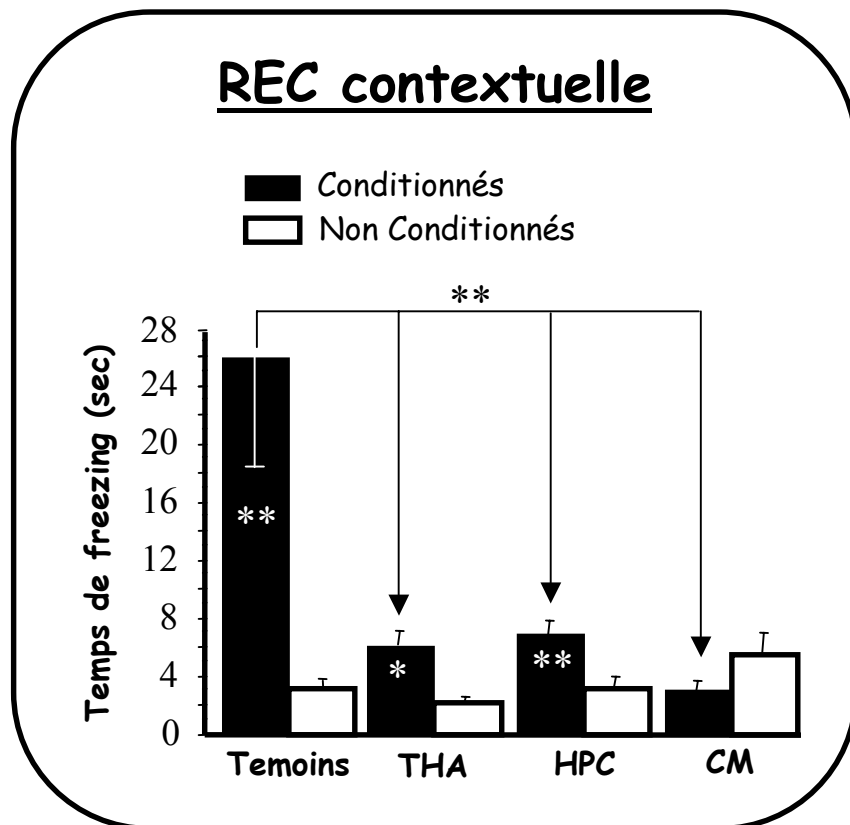


Figure III.8: Effets des différentes lésions sur la REC contextuelle

rapport aux autres groupes conditionnés, ils conservent néanmoins un temps de freezing très supérieur à celui des animaux non conditionnés THA ( $2.4 \pm 0.8$  sec ;  $F(1,17) = 5.6$  ;  $p = 0.03$ ). Les animaux conditionnés témoins, HPC et CM présentent également un temps de freezing significativement plus élevé que leurs contrôles non conditionnés respectifs ( $p < 0.01$  pour toutes les comparaisons par paire). Aucune différence significative n'est observée entre les groupes non conditionnés, quel que soit le type de lésion.

Considérés dans leur ensemble, ces résultats suggèrent i) que tous les animaux entendent le son et y réagissent par une immobilisation, ii) que tous les groupes expérimentaux sont conditionnés au son et répondent par du freezing, iii) que les animaux THA, bien que conditionnés, répondent significativement moins au son que les autres groupes expérimentaux.

### c. Réponse émotionnelle conditionnée contextuelle (Cf. figure III.8)

Une analyse ANOVA factorielle indique une différence significative entre les Groupes ( $F(3,88) = 7.1$  ;  $p = 0.0002$ ), entre les Conditions ( $F(1,88) = 12.3$  ;  $p = 0.0007$ ) et l'interaction Groupes X Conditions est également significative ( $F(3,88) = 8.25$  ;  $p < 0.0001$ ). Plus précisément, tous les groupes lésés conditionnés présentent une importante réduction de leur temps de freezing par rapport aux témoins conditionnés ( $p < 0.01$  dans tous les cas). De plus, seuls les animaux conditionnés témoins ( $25.7 \pm 9$  sec), conditionnés THA ( $6.0 \pm 1.1$  sec) et conditionnés HPC ( $6.8 \pm 2.3$  sec) présentent significativement plus de freezing que leurs contrôles non conditionnés respectifs ( $3.2 \pm 0.4$  sec ;  $2.0 \pm 0.4$  sec et  $3.2 \pm 1.4$  sec pour les non conditionnés témoins, THA et HPC respectivement ;  $p = 0.01$ ,  $p = 0.03$  et  $p = 0.005$  respectivement). Les animaux conditionnés CM ( $3.8 \pm 3$ sec), quant à eux, ne diffèrent pas de leurs contrôles non conditionnés ( $5.4 \pm 2.9$  sec;  $p > 0.1$ ). Il n'existe aucune différence significative entre tous les groupes

non conditionnés.

L'ensemble des résultats indique que les animaux TEMOINS, THA et HPC (dans une moindre mesure pour ces deux derniers groupes), sont conditionnés au contexte et y répondent par du freezing. Les animaux CM, quant à eux, n'expriment aucune REC contextuelle.

**En résumé, pour l'expérience sur l'effet des lésions cérébrales sur la REC, les résultats montrent que la lésion thalamique réduit fortement sans toutefois abolir complètement les REC auditive et contextuelle par rapport aux animaux témoins. La lésion hippocampique n'affecte pas la REC auditive mais réduit la REC contextuelle sans l'abolir totalement. Enfin, la lésion mamillaire épargne la REC auditive mais supprime totalement la REC contextuelle.**

A ce stade, on peut suggérer que l'effet de l'alcoolisation chronique sur la REC ressemble à celui produit chez les souris porteuses de la lésion des CM ou de l'HPC, ces dernières épargnant la REC auditive mais perturbant la REC contextuelle.

### **3. Effets de l'âge sur la réponse émotionnelle conditionnée**

*Cette analyse concerne les animaux Témoins des souris alcoolisées (TEMOINS ALCOOL) âgés de 17-18 mois (animaux AGES) et les animaux témoins des souris lésées (TEMOINS) âgés de 5-6 mois (animaux JEUNES). Elle permet d'étudier un éventuel effet de l'âge indépendamment de l'alcoolisation chronique.*

#### **a. Acquisition**

Les variables que nous étudieront dans l'analyse statistique sont les suivantes :

- *Mesure répétée: temps d'immobilisation pendant les 2 minutes précédant le conditionnement (phase pré-conditionnement) et temps de freezing pendant*

les 2 minutes suivant le conditionnement (phase post-conditionnement).

- Variable « *Conditions* » : animaux conditionnés (son + choc) versus animaux non conditionnés (son seul).
- Variable « *Groupes* » : souris JEUNES versus souris AGES.

L'analyse globale ANOVA en mesure répétée indique un effet significatif de la Mesure répétée ( $F(1,50) = 18.6$  ;  $p < 0.0001$ ). Plus précisément, il s'agit d'une augmentation significative du temps de freezing lors de la phase de post-conditionnement par rapport à la phase de pré-conditionnement. De plus, cette augmentation est significativement plus importante chez les animaux conditionnés que chez les animaux non conditionnés (interaction Mesure répétée X Conditions :  $F(1,50) = 12.4$  ;  $p = 0.0009$ ). En revanche, l'interaction Mesure répétée X Groupes n'est pas significative ( $F(1,50) = 1.7$  ;  $p = 0.3$ ), ce qui suggère que les animaux âgés ne diffèrent pas des animaux jeunes lors de l'acquisition. De plus, l'analyse par ANOVA factorielle portant sur chacune des deux phases de l'acquisition montre que les deux groupes expérimentaux présentent une activité exploratoire "basale" et un temps d'immobilisation spontanée similaires ( $F < 1.0$ ) pendant la phase de pré-conditionnement. En revanche, pendant la phase de post-conditionnement, l'analyse globale montre que le temps de freezing est plus important chez les animaux conditionnés que chez les animaux non conditionnés (Effet Conditions :  $F(1,50) = 11.9$  ;  $p = 0.001$ ), mais on n'observe aucune différence entre les groupes ( $F(1,50) = 2.2$  ;  $p = 0.15$ ) et l'interaction Groupes X Conditions n'est pas significative ( $F(1,50) = 2.2$  ;  $p = 0.15$ ).

Globalement, ces résultats indiquent i) que le vieillissement n'affecte ni les fonctions locomotrices et exploratoires spontanées, ni la réaction à la nouveauté puisqu'il n'y a aucune différence entre les groupes pendant la phase de pré-

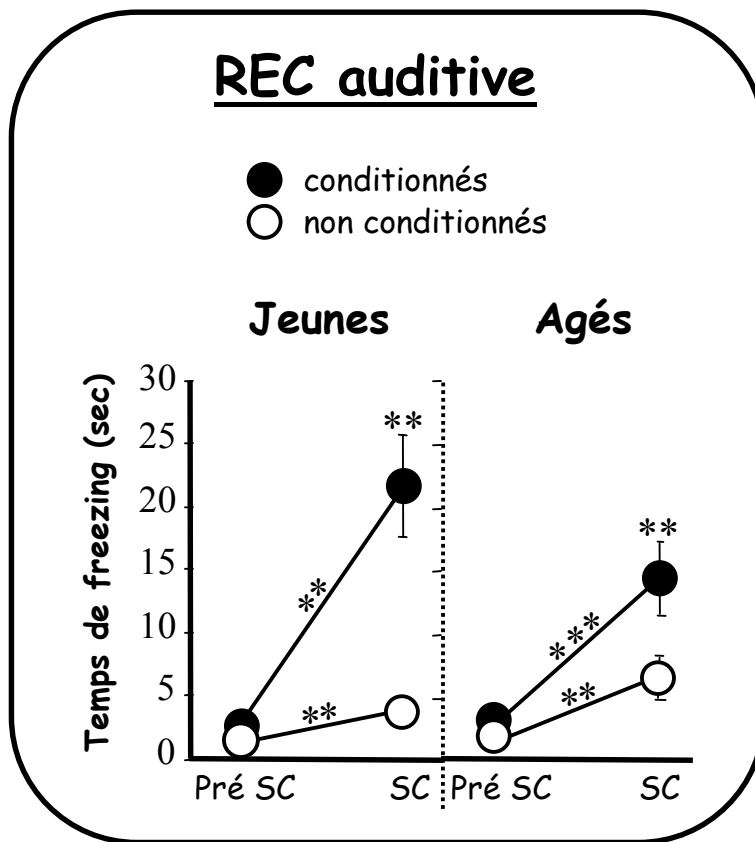


Figure III.9: effet du vieillissement sur la REC auditive



conditionnement ii) que le vieillissement n'affecte ni la capacité à percevoir l'occurrence du choc électrique, ni celle de réagir à ce choc par du freezing. Il n'y a donc aucune différence entre les animaux AGES et les animaux JEUNES concernant la phase d'acquisition.

#### b. Réponse émotionnelle conditionnée auditive (Cf. Figure III.9)

Variables de l'analyse statistique :

- *Mesure répétée*: temps d'immobilisation pendant les 2 minutes précédant l'émission du stimulus conditionnel sonore (phase pré-SC) et temps de freezing pendant les 2 minutes d'émission du SC (phase SC).
- Variable « *Conditions* » : animaux conditionnés versus animaux non conditionnés.
- Variable « *Groupes* » : souris JEUNES versus souris AGEES.

Une analyse globale par ANOVA avec mesure répétée indique une augmentation significative du temps de freezing pendant la phase SC par rapport à la phase pré-SC ( $F(1,50) = 87.13$  ;  $p < 0.0001$ ). Plus précisément, l'émission du son induit une augmentation significative du temps de freezing chez tous les animaux conditionnés (effet de la *Mesure répétée* : JEUNE :  $F(1,8) = 22.6$  ;  $p = 0.0014$  et AGES :  $F(1,8) = 27.3$  ;  $p = 0.0008$ ) comme chez tous les animaux non conditionnés (JEUNES :  $F(1,19) = 9.7$  ;  $p = 0.006$  et AGES :  $F(1,15) = 9.3$  ;  $p = 0.008$ ). Ce résultat indique que les animaux jeunes comme les animaux âgés entendent le son et y réagissent par une immobilisation. Cependant, cette augmentation est significativement plus importante pour les animaux conditionnés que pour les animaux non conditionnés (interaction *Mesure répétée* X *Conditions* :  $F(1,50) = 27.8$  ;  $p < 0.0001$ ). Cette analyse indique que tous les animaux ayant reçu le choc électrique lors de l'acquisition ont effectué

l'association son-choc et répondent au son seul par un temps de freezing plus important que les animaux non conditionnés. En revanche, l'interaction Mesure répétée X Groupe n'est pas significative ( $F(1,50) = 1.16$  ;  $p = 0.3$ ). De plus, une analyse par ANOVA factorielle portant sur chacune des deux phases successives indique qu'il n'y a pas de différence entre les Groupes ( $F < 1.0$ ) ou entre les Conditions ( $F < 1.0$ ) pendant la phase pré-SC et l'interaction Groupes X Conditions n'est pas significative ( $F < 1.0$ ). En revanche, pendant la phase SC, les animaux conditionnés présentent un temps de freezing plus important que les animaux non conditionnés (Conditions ;  $F(1,50) = 33.7$  ;  $p < 0.0001$ ). Il n'y a pas d'effet significatif du vieillissement (Groupes ;  $F < 1.0$ ) mais l'interaction Groupes X Conditions est significative ( $F(1,50) = 5.06$  ;  $p = 0.03$ ). Cette analyse indique que les animaux conditionnés qu'ils soient jeunes ( $25.8 \pm 9.5$  sec) ou âgés ( $14.5 \pm 2.8$  sec) expriment un temps de freezing significativement supérieur aux animaux non conditionnés correspondants (jeunes ;  $3.8 \pm 1.0$  ;  $F(1,27) = 31.7$  ;  $p < 0.0001$  et âgés ;  $6.8 \pm 1.6$  ;  $F(1,23) = 6.6$  ;  $p = 0.015$ ). La signification statistique de l'interaction Groupes X Conditions est due au fait que les animaux âgés ont une tendance non significative ( $F(1,34) = 2.6$  ;  $p = 0.1$ ) à être plus immobiles que les jeunes dans la situation non conditionnée alors qu'ils présentent la tendance inverse, toujours non significative ( $F(1,16) = 1.85$  ;  $p = 0.19$ ) dans la situation conditionnée.

Dans leur ensemble, ces résultats suggèrent i) que les animaux AGES comme les JEUNES entendent le son et y réagissent par une immobilisation, ii) que les deux groupes expérimentaux sont conditionnés au son et sont capables d'y répondre par du freezing, iii) que les animaux AGES ne diffèrent pas des animaux JEUNES en ce qui concerne la REC auditive.

### c. Réponse émotionnelle conditionnée contextuelle.(Cf. Figure III.10)

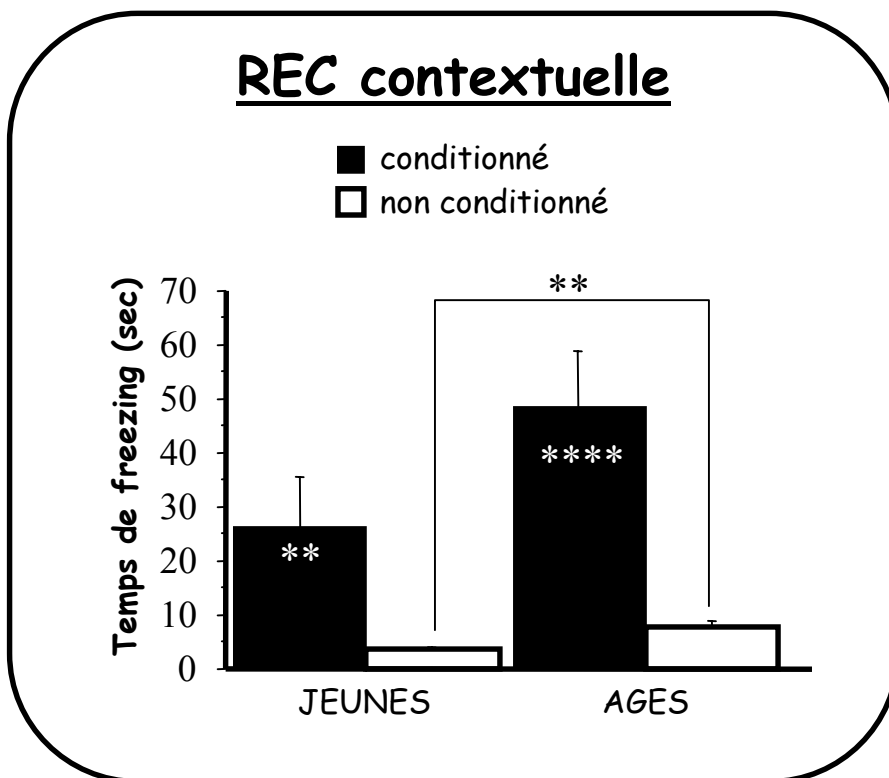


Figure III.10: effet du vieillissement sur la REC contextuelle

On observe une différence significative entre les groupes ( $F(1,50) = 7.5$  ;  $p = 0.0085$ ), entre les conditions ( $F(1,50) = 40.9$  ;  $p < 0.0001$ ) et l'interaction Groupes X Conditions est très proche de la signification statistique ( $F(1,50) = 3.4$  ;  $p = 0.07$ ). Cette analyse indique que les animaux conditionnés, qu'ils soient jeunes ( $25.8 \pm 9.6$  sec) ou âgés ( $48.6 \pm 10.3$  sec) présentent significativement plus de freezing que les animaux non conditionnés correspondant (jeunes ;  $3.2 \pm 0.4$  sec ;  $F(1,27) = 31.7$  ;  $p < 0.0001$  et âgés ;  $7.6 \pm 1.4$  sec ;  $F(1,23) = 27.5$  ;  $p < 0.0001$ ). De plus, l'analyse globale montre que les animaux âgés ont une tendance générale à être plus immobiles que les animaux jeunes (Groupe ;  $F(1,50) = 7.5$  ;  $p = 0.0085$ ), mais une analyse plus détaillée indique que cette tendance n'est significative que pour les animaux non conditionnés ( $F(1,34) = 10.6$  ;  $p = 0.0025$ ) et non pour les animaux conditionnés ( $F(1,16) = 2.6$  ;  $p = 0.1$ )

En résumé, l'ensemble des résultats montre que le vieillissement ne perturbe ni la REC auditive ni la REC contextuelle. On doit toutefois noter «l'hyperconditionnement» au contexte des souris âgées.

### **III DISCUSSION**

Le but de cette expérience était i) de vérifier si l'alcoolisation chronique modifiait les capacités associatives primaire (SC-SI) et secondaire (SI-Contexte) dans une expérience impliquant une composante de stress ; ii) de déterminer, par une approche lésionnelle chez la souris normale (i.e. non alcoolisée) les effets de lésions sélectives de l'hippocampe et des structures de la voie mamillo-thalamique, par ailleurs touchées par l'alcoolisation chronique, sur la même épreuve.

Les résultats montrent que i) l'alcoolisation chronique ne perturbe pas la REC auditive mais réduit significativement la REC contextuelle sans toutefois l'abolir complètement ; ii) la lésion thalamique réduit fortement sans toutefois abolir complètement les REC auditive et contextuelle ; iii) la lésion hippocampique n'affecte pas la REC auditive mais réduit la REC contextuelle sans l'abolir totalement ; iv) la lésion mamillaire épargne la REC auditive mais supprime totalement la REC contextuelle ; v) le vieillissement ne perturbe ni la REC auditive ni la REC contextuelle; on observe même une tendance à un conditionnement accru au contexte par rapport aux souris jeunes.

Nos données montrent globalement que l'alcoolisation chronique ne perturbe pas la capacité d'associer le SC et le SI, mais affaiblit (sans l'abolir néanmoins) la généralisation du SI au contexte du conditionnement. Par ailleurs, la lésion des CM ou de l'hippocampe provoque un déficit comparable (préservation de la REC auditive, mais réduction (HPC) voire abolition (CM) de la REC contextuelle), ce qui n'est pas le cas de la lésion du thalamus antérieur (qui supprime la REC auditive).

L'effet de l'alcoolisation chronique sur la REC contextuelle peut résulter des atteintes cérébrales induites par ce traitement sur les corps mamillaires (CM) de l'hypothalamus (Cf. Introduction) , dont la lésion directe provoque des déficits identiques à ceux induits par l'alcoolisation, quoique de plus grande importance. Notre étude est la première à mettre en évidence la participation des CM dans la REC contextuelle, et plus encore, celle du thalamus antérieur (sur ce dernier point, voir notre article joint en annexe).

Les effets de la lésion de l'hippocampe dans la REC sont très étudiés et ont donné lieu à de nombreux travaux. La plupart des données montrent que l'atteinte de l'hippocampe provoque, dans certaines circonstances, un affaiblissement de la REC contextuelle (secondaire) sans modifier la REC auditive (primaire) (LeDoux, 1993). Cependant, de nombreuses études ont montré que l'exposition préalable au contexte avant l'expérience de conditionnement était indispensable à l'émergence de la REC contextuelle. O'Reilly et Rudy (2001) suggèrent que l'hippocampe est nécessaire pour établir une généralisation entre les aspects factuels de l'expérience (les éléments du conditionnement, le contexte) en liant les événements dans une représentation dynamique et unitaire ("conjonctive représentation"). Cette fonction de l'hippocampe serait en œuvre de façon plus générale dans la mémoire déclarative (mémoire relationnelle).

A ce stade, il est difficile de déterminer si le déficit contextuel reflète un affaiblissement de la prise en compte du contexte induit par les traitements (lésions ou alcoolisation), qui touchent des structures intervenant dans le traitement des informations contextuelles et visuo-spatiales (hippocampe, CM...), ou bien si un trouble émotionnel plus général peut en partie rendre compte des déficits. Il est intéressant de noter que les souris alcoolisées comme les souris lésées présentent des réactions à la nouveauté comparables aux témoins, dans la phase de pré-conditionnement, ce qui signifie que le déficit contextuel des souris expérimentales reflète un trouble de la généralisation du SI aux stimuli contextuels présents lors du conditionnement, plutôt qu'un déficit initial dans la prise en compte du contexte de l'expérience.

La capacité à généraliser la REC au contexte pourrait être "dépendante de" ou "fonction de" la réactivité émotionnelle de l'animal. En effet, des études antérieures ont montré que l'alcoolisation chronique réduisait la réactivité

émotionnelle de peur en milieu anxiogène (labyrinthe en croix surélevé, open field). Inversement, les souris témoins des groupes alcool (du même âge que les souris alcoolisées) présentent par rapport à des souris jeunes la tendance inverse, c'est-à-dire une réactivité émotionnelle accrue dans le même appareil. Or, on constate que l'alcoolisation et l'âge ont des effets inverses sur la REC contextuelle. Une autre étude (la seule à notre connaissance) a également montré que l'âge provoquait une augmentation de la REC contextuelle (Doyère et al, 2000); selon les auteurs, le contexte comporterait des éléments d'incertitude concernant la liaison avec le SI, ce qui accroîtraient la réactivité émotionnelle de peur des animaux âgés; il en résulterait un "hyper" conditionnement au contexte. Ceci pourrait expliquer que la REC contextuelle soit plus sensible aux effets de traitements ayant une répercussion sur l'état émotionnel de l'animal, par rapport à la REC auditive, dans laquelle l'association par contiguïté entre le choc et le son est forte et donc mieux retenue. Des travaux réalisés chez les sujets amnésiques et notamment les Korsakoff ont montré que les informations les mieux retenues étaient celles ayant une composante émotionnelle forte plutôt que les informations plus "neutres" (Markowitsch et al, 1884 ; Markowitsch et al, 1986 ; Oscar-Berman, 1984).

En dépit des données suggérant un lien entre l'état émotionnel de l'animal et l'expression d'un souvenir, le protocole utilisé ne répond pas à nos objectifs initiaux, les limites principales de ce protocole étant de deux sortes : tout d'abord, la mesure comportementale classiquement utilisée dans les études de conditionnement aversif est le freezing. C'est une réponse naturelle induite par la peur ou la douleur et qui est définie comme l'absence totale de mouvements exceptés ceux de la respiration (Blanchard et Blanchard, 1969). Le freezing est utilisé comme index de l'apprentissage ou de la rétention d'une information associée à une expérience aversive. Cependant, la quantification du freezing pose

problème. Cette quantification peut être réalisée manuellement, à partir de l'observation des animaux. La quantification manuelle permet d'obtenir la description précise d'un nombre important de comportements moteurs et posturaux stéréotypés dont le freezing (Phillips et Ledoux, 1992, 1994). L'analyse manuelle est qualitativement très précise mais c'est une technique qui prend beaucoup de temps et qui peut faire l'objet de biais expérimentaux. Pour ces raisons, nous avons opté pour une quantification automatique permettant de s'affranchir du problème de l'erreur humaine. Cependant, les systèmes automatiques actuels sont de faible résolution dans la mesure où ils permettent seulement de discriminer entre l'absence ou la présence de réponses locomotrices mais ne discernent pas avec précision, à l'intérieur des phases sans mouvement, ce qui est du freezing et ce qui n'en est pas. A posteriori, nous admettons que la quantification du freezing telle que nous l'avons réalisée n'est pas spécifique de la peur.

Par ailleurs, la procédure de conditionnement aversif nous a permis d'étudier l'effet de l'alcoolisation chronique dans une épreuve pourvue d'une valence émotionnelle forte afin de comparer les déficits observés dans ce cas de figure, à ceux obtenus dans une épreuve mnésique dépourvue d'une "dimension" affective aussi forte. Dans la REC, le choc électrique est l'agent renforçant négatif. Il est directement associé aux informations à retenir. De ce fait, l'expérience émotionnelle de l'animal est indissociable de son expérience mnésique puisque le stress fait partie intégrante de l'information à retenir. En d'autres termes on étudie ici la mémorisation (acquisition, rétention, restitution) d'une information aversive. La composante émotionnelle est nécessairement présente dès la phase d'acquisition et donc ce protocole ne permet pas d'étudier l'effet du stress spécifiquement sur la phase de restitution.



Dans notre perspective initiale, nous souhaitons étudier l'effet d'un stress indépendant de l'information à retenir, spécifiquement sur la restitution mnésique. Nous avons donc abandonné la procédure de conditionnement aversif pour réaliser un protocole comportemental répondant à nos objectifs.

# Chapitre IV

**MISE EN EVIDENCE DE L'INTERACTION  
ENTRE STRESS ET RESTITUTION MNESIQUE  
CHEZ LA SOURIS NORMALE.**

**Etudes comportementale, immunohistochimique et  
endocrinienne**

## INTRODUCTION

Nous avons précisé en introduction que le déficit mnésique des souris alcoolisées dans le protocole d'alternance spontanée peut être compensé par une modification contextuelle (ajout d'un carton blanc) lors de l'essai de restitution (Béracochéa et al, 1987). Deux hypothèses ont été avancées pour expliquer l'effet compensatoire de la modification contextuelle sur le déficit de restitution mnésique. La première hypothèse est en rapport avec la notion d'effort requis pour accomplir la tâche mnésique. Ainsi, sans la modification contextuelle, les processus de rappel mis en jeu seraient plutôt spontanés et automatiques. Le rappel spontané serait perturbé par l'alcoolisation chronique. La présentation de l'indice lors de l'essai de rétention engagerait l'animal dans un processus de rappel plus actif, plus dirigé. Le rappel actif (« effortfull »), quant à lui, serait épargné par l'alcoolisation chronique. La seconde hypothèse est en rapport avec la réactivité émotionnelle. En effet, l'observation du comportement des animaux indique que la présence de l'indice nouveau, en plus de compenser le déficit mnésique, provoque de vives réactions émotionnelles (sauts, freezing, miction...). La réduction de la réactivité émotionnelle de peur observée par ailleurs chez les souris alcoolisées serait à l'origine du déficit mnésique et l'indice nouveau, en restaurant une réactivité émotionnelle normale (augmentation de la peur) restaurerait du même coup des performances mnésiques. De plus, des résultats montrant que l'injection de  $\beta$ CCM, molécule anxiogène, chez les animaux alcoolisés restaure également des performances mnésiques normales plaident en faveur de cette dernière hypothèse. Pour évaluer cette hypothèse, nous avons développé une épreuve comportementale, en premier lieu chez l'animal normal. Une fois validée, cette épreuve pourra être utilisée avec des animaux alcoolisés.

Concernant l'élaboration du modèle comportemental, nos objectifs étaient les suivants :

- le modèle comportemental devait permettre d'étudier l'effet du stress spécifiquement sur la phase de restitution mnésique, ce qui n'était pas le cas avec la REC.
- Le modèle devait nous permettre de nous affranchir de la mesure de freezing utilisée dans l'expérience de REC. En effet, comme nous l'avons indiqué précédemment, le freezing est une réponse comportementale complexe, difficile à objectiver et à interpréter. Ainsi, il paraissait plus judicieux d'envisager un modèle comportemental permettant de mesurer un comportement actif d'approche plutôt qu'une inhibition comportementale.
- Certaines données de la littérature suggèrent que l'alcoolisation chronique s'accompagne souvent d'une sensibilité exagérée aux interférences et plus particulièrement aux interférences proactives (produites par un souvenir plus ancien et perturbant le rappel d'un item plus récent). Ainsi, notre modèle devait nous permettre d'obtenir des mesures comportementales relatives "au poids" de l'interférence.
- Enfin, nous avons jugé pertinent d'associer les mesures comportementales à certaines mesures physiologiques et neurobiologiques afin d'obtenir des arguments biologiques à l'appui de nos résultats comportementaux. Ainsi, nous avons entrepris d'une part, une étude endocrinienne afin caractériser la réponse au stress d'un point de vue physiologique et d'autre part, nous avons effectué une étude immunohistochimique afin d'identifier les réseaux neuronaux cérébraux mis en jeu dans cette épreuve de mémoire et préciser les effets du stress sur l'activité de ces mêmes réseaux.

Dans ce chapitre, nous présenterons les différentes étapes qui nous ont conduit à l'élaboration du modèle comportemental ainsi que les études endocrinienne et immunohistochimique chez l'animal normal adulte. Ce travail doit nous permettre de valider un protocole que nous pourrions ultérieurement appliquer à l'étude des effets de l'alcoolisation chronique.

## **I - ETUDE COMPORTEMENTALE**

Comme précédemment indiqué dans le chapitre II cette expérience a lieu dans une boîte à 4 trous. Les différents paramètres suivants sont évalués, au moyen de cellules photoélectriques placées dans chacun des trous:

- 1- temps de visite par trou (secondes) (permet le calcul du paramètre 5)
- 2- Nombre de visite par trou (permet le calcul du paramètre 6)
- 3- temps total de visite des 4 trous (secondes)
- 4- Nombre total de visite dans les 4 trous
- 5- Pourcentage de temps passé dans chaque trou = (temps de visite par trou / temps total de visite des 4 trous)  $\times$  100
- 6- Pourcentage de visite dans chaque trou = (Nombre de visite par trou / fréquence totale de visite des 4 trous)  $\times$  100

Nous considérons que les paramètres 5 et 6 sont représentatifs de l'aspect strictement mnésique de la tâche, dans la mesure où ils permettent de mettre en évidence l'approche (ou l'évitement) particulier de l'animal pour un trou précis par rapport aux autres trous. Les paramètres 5 et 6 reflètent donc la discrimination, indépendamment de l'activité exploratoire. Dans nos analyses, nous avons systématiquement étudié ces deux paramètres simultanément. Dans la mesure où

ils sont toujours positivement corrélés ( $r > 0.92$  ;  $p < 0.0001$  dans toutes les comparaisons) nous mentionnerons dans nos commentaires et nos représentations graphiques uniquement le paramètre 6 (rapport fréquence).

Nous considérons que les paramètres 3 et 4 sont représentatifs de l'activité exploratoire globale des animaux. Nous avons systématiquement analysé ces 2 paramètres simultanément afin de déterminer si les différents traitements utilisés avaient un impact sur l'activité exploratoire. Là encore, dans la mesure où ces 2 paramètres sont positivement corrélés ( $r > 0.92$  ;  $p < 0.0001$ ), nous ne mentionnerons que le paramètre 4 (fréquence totale).

Les souris utilisées dans toutes les expériences décrites dans ce chapitre sont âgées de 5 à 6 mois et sont toutes préalablement soumises à une privation alimentaire partielle, décrite dans le chapitre II.

#### **A. 1<sup>ERE</sup> EXPERIENCE : DISCRIMINATION SPATIALE SANS INTERFERENCE**

Cette expérience avait plusieurs objectifs :

- en premier lieu, déterminer si les animaux étaient capables de réaliser l'apprentissage d'une discrimination spatiale en une session unique
- mettre en évidence un éventuel effet du délai de rétention (intervalle de rétention de 5 minutes ou de 24 heures) sur le rappel de cette discrimination.
- enfin, évaluer l'effet d'un stress aigu (choc électrique), délivré 5 minutes avant l'essai de rétention, sur la restitution de la discrimination.

#### **1. Procédure expérimentale (Cf. Figure IV.1)**

**ACQUISITION** : l'animal est placé dans l'appareil pendant 6 minutes au cours desquelles il est libre d'explorer son environnement. Seul un trou sur les quatre

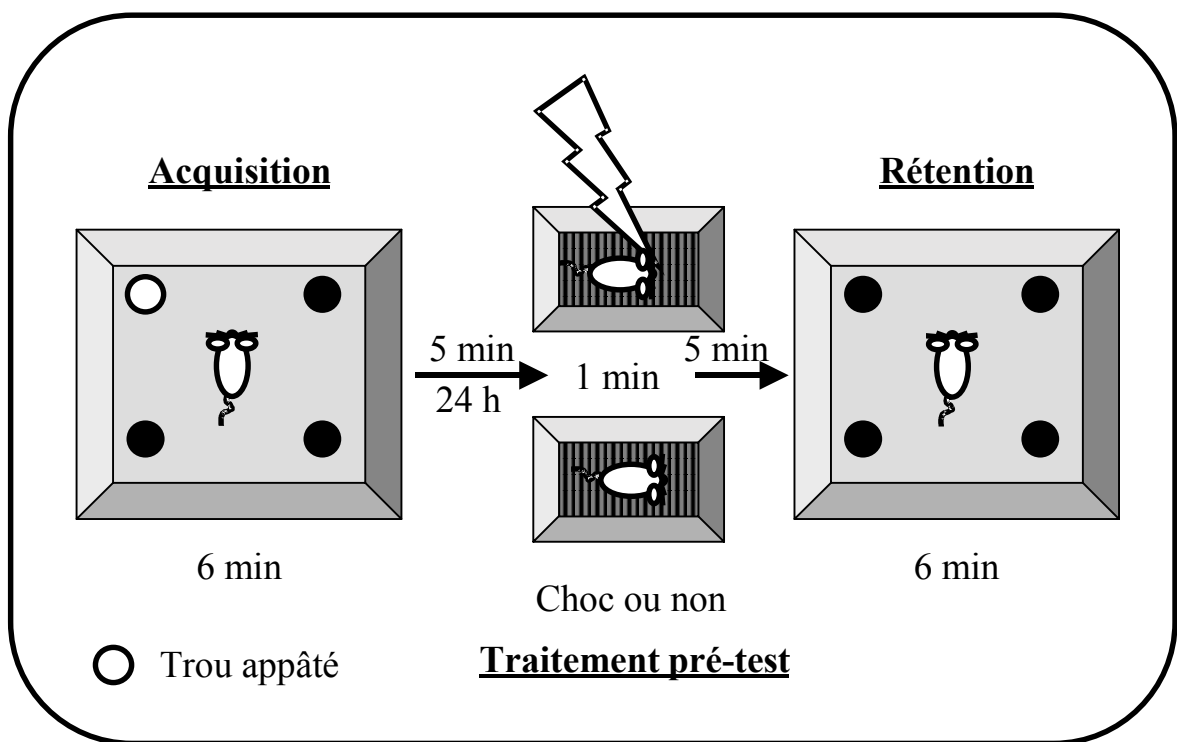


Figure IV.1: Procédure expérimentale de l'expérience 1 « sans interférence »

est appâté par 10 pastilles alimentaires. Le trou appâté varie entre chaque souris. Au terme de la phase d'acquisition, les animaux sont replacés dans leur cage habituelle à l'animalerie pour un intervalle de rétention de 5 minutes ou de 24 heures.

*Remarques :*

Nous avons délibérément choisi de ne pas faire de séance d'habituation avant l'acquisition, car l'exposition à un environnement nouveau stimule l'activité exploratoire, favorisant ainsi la visite de tous les trous. En effet, des expériences préliminaires (non rapportées dans cette thèse) nous ont permis de déterminer qu'une habituation préalable avait tendance, lors de l'acquisition, à fixer les animaux sur le trou appâté et à inhiber l'exploration des autres trous.

Nous avons choisi un délai de 6 minutes et un renforcement alimentaire de 10 pastilles car l'observation du comportement des souris au cours des expériences préliminaires nous a permis de constater qu'en l'absence de phase d'habituation préalable, l'activité exploratoire liée à la nouveauté entrait en compétition avec l'attrait exercé par le trou appâté. Le comportement des souris est alors assez stéréotypé : elles alternent rapidement les phases d'exploration des trous non appâtés et les phases de consommation des pastilles du trou appâté. Pendant le délai de 6 minutes cette compétition est conservée, mais si le délai s'allonge, les animaux explorent de moins en moins.

En moyenne, 10 pastilles alimentaires constituent une quantité suffisante pour maintenir appâté le trou pendant les 6 minutes de l'acquisition. Si on réduit cette quantité, les souris consomment les pastilles avant la fin de l'acquisition, si bien que les visites ultérieures constitueraient le début d'une "phase d'extinction". L'analyse des enregistrements vidéo nous a permis de nous assurer que toutes les



souris de nos expériences disposaient bien d'agents renforçants alimentaires tout au long de la phase d'acquisition.

**TRAITEMENT PRE-TEST** : 5 minutes ou 24 heures après l'acquisition et 5 minutes avant l'essai de rétention, les animaux sont placés pendant 1 minute dans une chambre de conditionnement située dans une autre pièce. La chambre de conditionnement est une enceinte close (longueur = 20 cm ; largeur = 15 cm ; hauteur = 15 cm) dont une paroi latérale est transparente et dont le plancher est constitué de barrettes métalliques ( 3mm de diamètre, espacées de 5 mm) reliées à un stimulateur électrique. Les animaux choqués reçoivent 3 chocs électriques successifs ( 0.9 mA ; 2 sec) au bout de 10 secondes, 30 secondes et 50 secondes puis sont replacés dans leur cage habituelle dans une pièce de transition (différente de la pièce où les chocs électriques sont délivrés et différente de la pièce où se déroule l'expérience de discriminations). Les animaux non choqués sont placés dans les mêmes conditions expérimentales mais ne reçoivent pas de choc électrique. La cage de conditionnement est nettoyée à l'alcool à 95% puis à l'eau entre chaque animal.

**RETENTION** : L'animal est placé dans la boîte à 4 trous pendant 6 minutes au cours desquelles on mesure les différents paramètres d'exploration cités précédemment. Lors de l'essai de rétention, aucun trou n'est appâté.

## 2. Résultats

Les animaux ont été répartis en 4 groupes :

- délai de rétention = 5 minutes ; non choqué ; N = 11 : **5min/NC**
- délai de rétention = 5 minutes ; choqué ; N = 11 : **5min/C**
- délai de rétention = 24 heures ; non choqué ; N = 9 : **24h/NC**

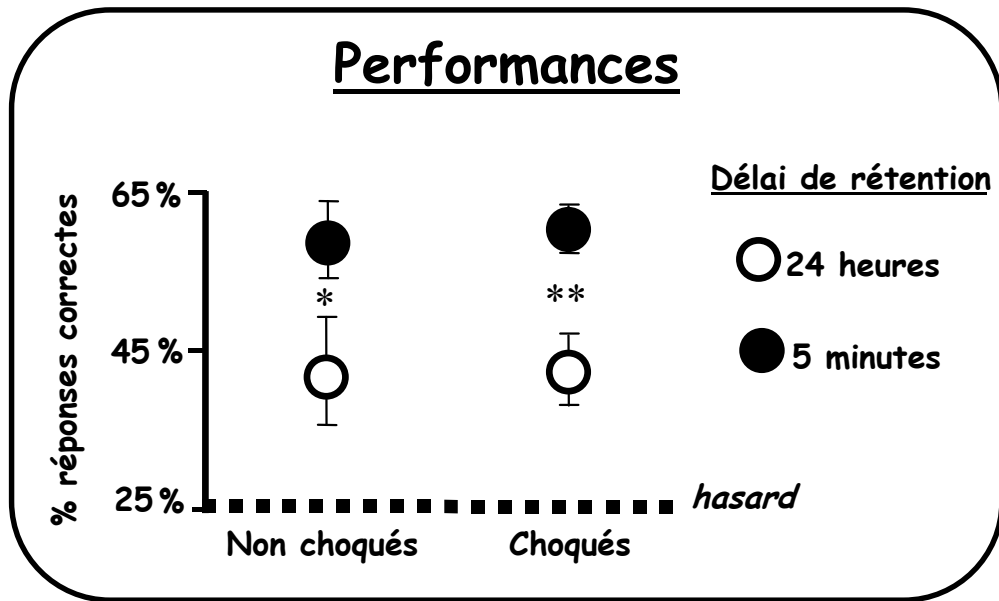


Figure IV.2: Analyse des performances pour l'expérience 1 « sans interférence »: effet du choc électrique et du délai de rétention

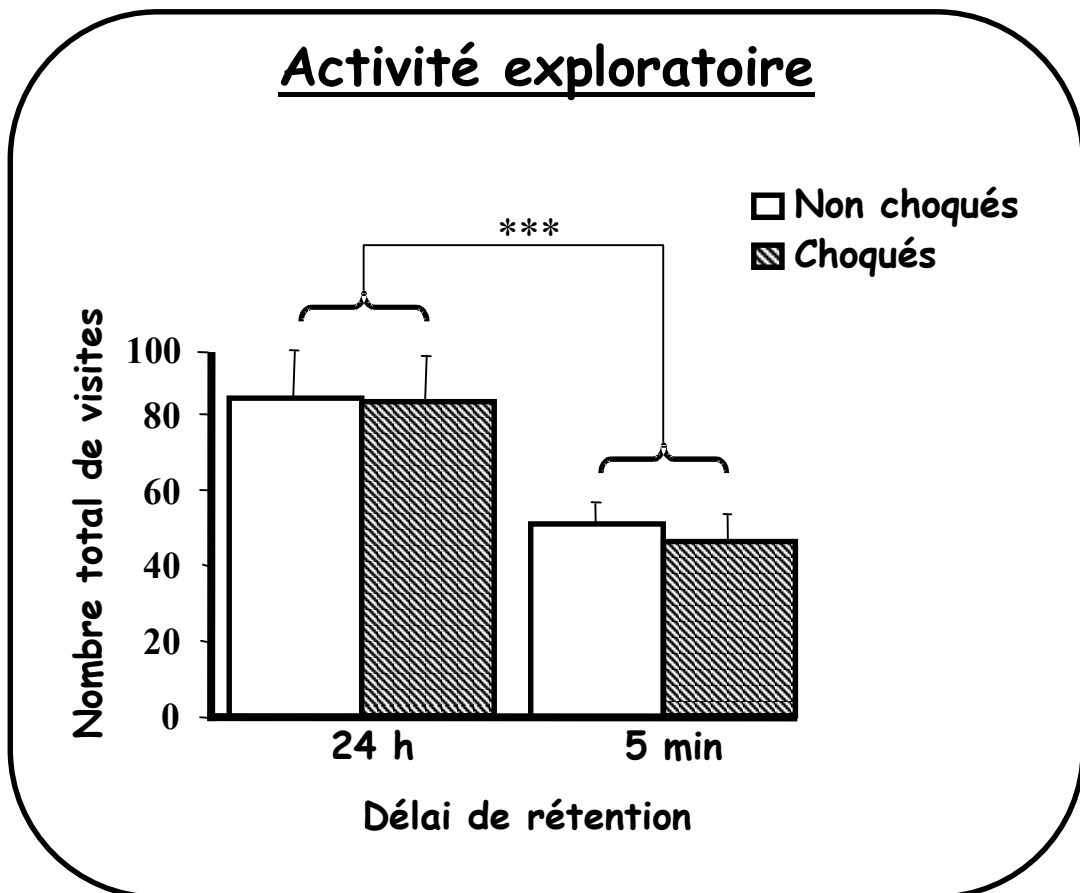


Figure IV.3: Analyse de l'activité exploratoire pour l'expérience « sans interférence » effet du choc électrique et du délai de rétention

- délai de rétention = 24 heures ; choqué ; N = 10 : **24h/C**

#### a. Performances (Cf. Figure IV.2)

L'analyse globale des résultats montre un effet significatif du délai de rétention ( $F(1,37) = 12.9$  ;  $p = 0.0009$ ). Plus précisément, le pourcentage de réponses correctes (c'est à dire le pourcentage de visites dans le trou appâté lors de l'acquisition) est significativement plus élevé pour le délai de rétention de 5 minutes que pour le délai de 24 heures ( $59.3 \pm 2.7\%$  et  $42.3 \pm 3.8\%$  respectivement,  $F(1,39) = 13.6$  ;  $p = 0.0007$ ). En revanche, le choc électrique n'a pas d'effet sur les performances ( $F < 1.0$ ) et l'interaction délai X choc n'est pas significative ( $F < 1.0$ ). De plus, les performances pour les 4 groupes 5min/NC, 5min/C, 24h/NC et 24h/C sont significativement supérieures au hasard (25 %) ( $t = 7.022$  ;  $p < 0.0001$ ,  $t = 11.89$  ;  $p < 0.0001$ ,  $t = 2.61$  ;  $p = 0.03$  et  $t = 3.96$  ;  $p = 0.003$  respectivement).

#### b. Activité exploratoire en rétention (Cf. Figure IV.3)

L'analyse globale indique un effet significatif du délai de rétention sur l'activité exploratoire (c'est à dire le nombre total de visites dans les 4 trous) des animaux ( $F(1,37) = 12.96$  ;  $p = 0.0009$ ). Plus précisément, les animaux soumis au délai de rétention de 5 minutes explorent significativement moins que les souris soumises au délai de rétention de 24 heures (respectivement  $48.7 \pm 5$  et  $83.9 \pm 8.4$  visites totales ;  $F(1,39) = 13.6$  ;  $p = 0.0007$ ). En revanche, le choc électrique n'a pas d'effet sur l'activité exploratoire ( $F < 1.0$ ) et l'interaction délai X choc n'est pas non plus significative ( $F < 1.0$ ).

**En résumé, les résultats indiquent que les animaux sont capables de réaliser la discrimination en une session unique, puisque les performances sont significativement supérieures au hasard quel que soit le délai de rétention (5 minutes ou 24 heures). De plus, la rétention au délai de 5**

minutes est significativement meilleure et l'activité exploratoire significativement plus faible qu'au délai de 24 heures. Enfin, le choc électrique délivré 5 minutes avant le test n'a aucun effet sur les performances ni sur l'activité exploratoire, quel que soit le délai de rétention.

Nous nous attendions ici à observer une influence (positive ou négative) du stress sur les performances. En effet, il s'agit d'un stress sévère, qui a un impact immédiat sur le comportement des animaux dans la cage de stimulation (cris, sauts, freezing, défécations...). L'absence d'effet du choc sur les performances peut être liée à la simplicité de l'épreuve. En effet, les animaux sont capables d'acquiescer la tâche en une seule session, même pour un délai de rétention de 24 heures, ce qui témoigne de la relative simplicité de l'apprentissage, favorisant probablement une grande stabilité des informations acquises. Un stress, même sévère, ne semble pas influencer la restitution d'informations très stables (Cf. Chapitre I).

Pour éprouver cette hypothèse, nous avons accru la difficulté de l'épreuve comportementale en ajoutant une deuxième information à retenir. Nous augmentons ainsi « la charge mnésique » en plaçant l'animal dans une situation d'interférence.

## **B. 2<sup>EME</sup> EXPERIENCE: DISCRIMINATIONS SPATIALES SERIELLES CONTEXTUELLES « AVEC INTERFERENCES » (DSCS)**

Cette expérience avait plusieurs objectifs :

- étudier l'impact de l'interférence proactive et de l'interférence rétroactive sur la restitution des deux discriminations acquises après un délai de rétention de 5 minutes ou de 24 h.

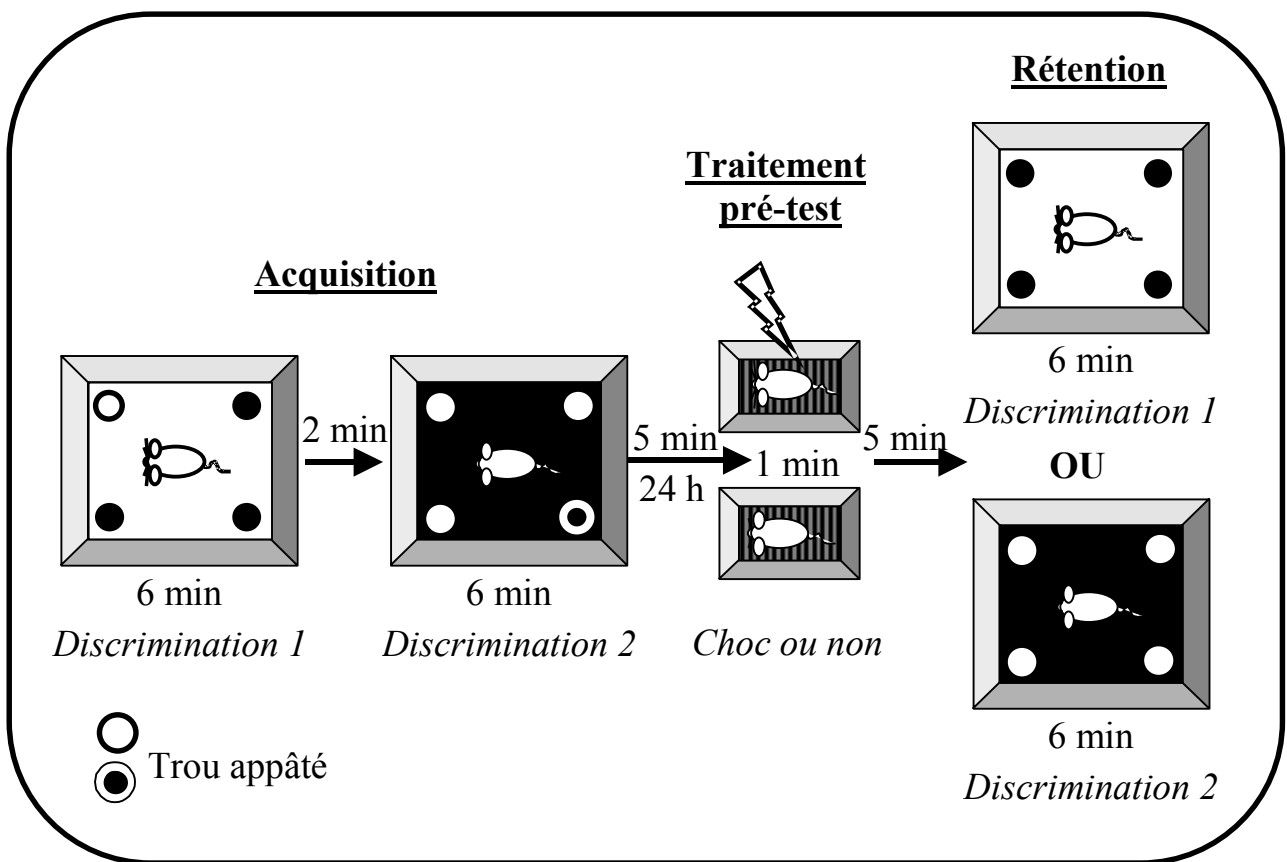


Figure IV.4: Procédure expérimentale de l'expérience 2 « avec interférence » (DSCS)

- évaluer l'effet du choc électrique sur la restitution des deux discriminations sérielles pour les deux délais de rétention.

## 1. Procédure expérimentale (Cf. Figure IV.4)

Le déroulement de l'épreuve est identique à celui de la 1<sup>ère</sup> expérience mais l'animal est ici soumis à 2 apprentissages successifs.

### ACQUISITION :

*Discrimination 1* : l'animal est placé dans l'appareil muni par exemple du plancher blanc et rugueux pour une durée de 6 minutes. Un trou spécifique sur les quatre est appâté (10 pastilles). Puis l'animal est replacé dans sa cage habituelle dans la pièce de transition pendant 2 minutes.

*Discrimination 2* : l'animal est placé dans l'appareil, muni cette fois du plancher noir et lisse pour une durée de 6 minutes. Ici, le trou diamétralement opposé à celui de l'apprentissage précédent est appâté. Puis l'animal est ramené à l'animalerie pour un intervalle de rétention de 5 minutes ou de 24 heures.

Remarque: la position sérielle des 2 planchers différents est alternée au sein de chaque groupe d'une souris à l'autre afin d'éviter un éventuel effet de la couleur du plancher (blanc ou noir) sur les performances.

**TRAITEMENT PRE-TEST** : les modalités d'application du choc électrique sont identiques à celles de la 1<sup>ère</sup> expérience.

**RETENTION** : tous les animaux sont soumis à un seul essai de rétention portant soit sur la 1<sup>ère</sup> discrimination, qui permet d'étudier l'effet de l'interférence rétroactive, soit sur la 2<sup>ème</sup> discrimination qui permet d'étudier l'effet de l'interférence proactive. Aucun trou n'est appâté lors de l'essai de rétention.

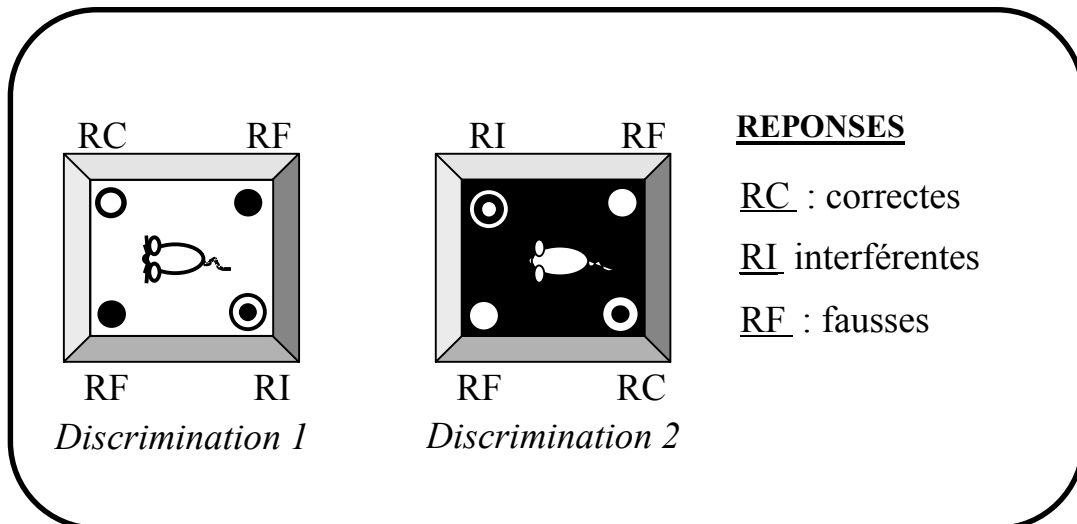


Figure IV.5: Nature des réponses émises dans l'expérience « avec interférences »

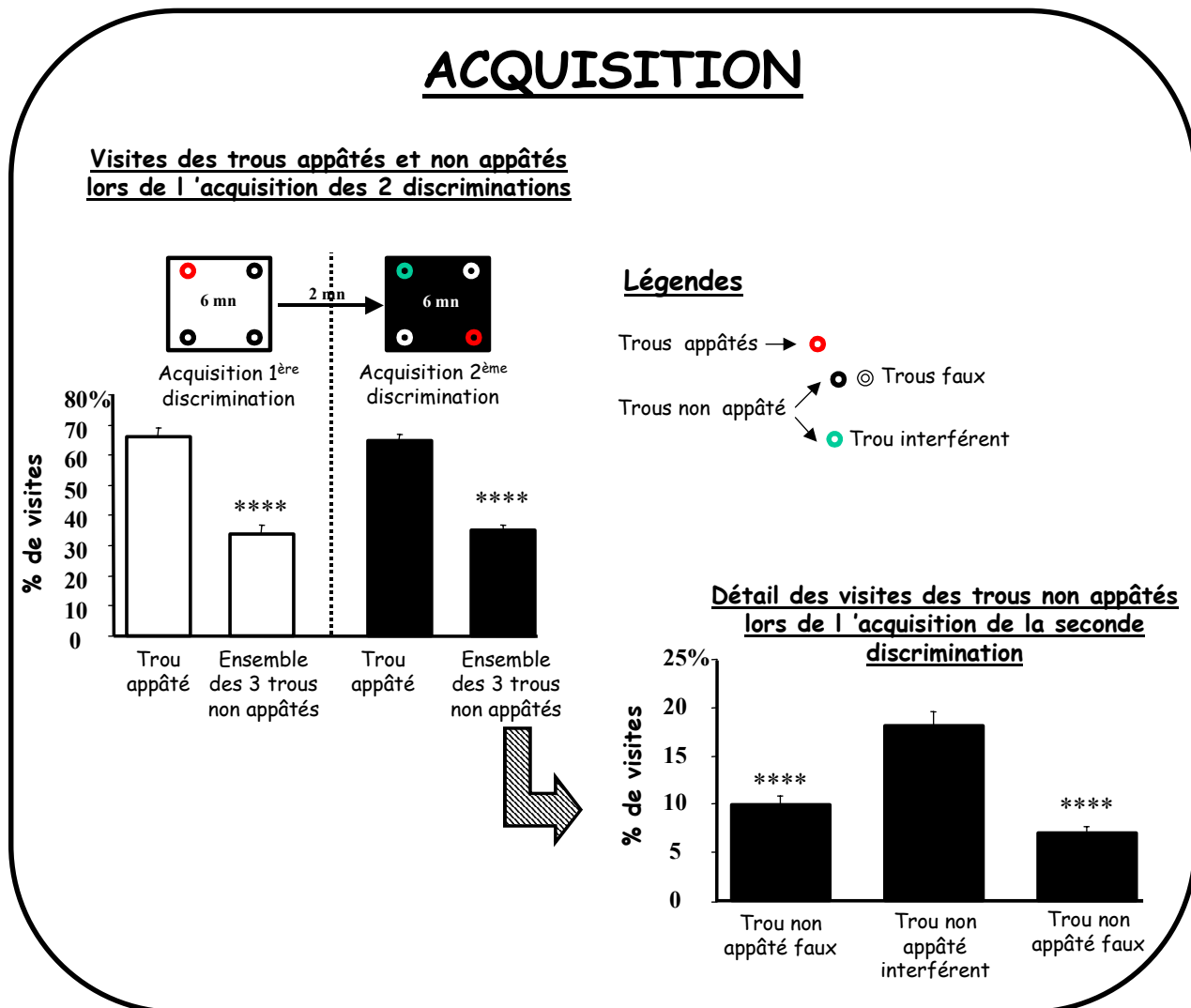


Figure IV.6 : Analyse de la phase d'acquisition pour l'expérience « avec interférence »

Nous avons mesuré les paramètres cités précédemment en fonction de la nature des réponses émises (Cf. Figure IV.5):

- réponses correctes : visites du trou qui était appâté sur le même plancher lors de l'acquisition
- réponses interférentes : visites du trou qui était appâté sur l'autre plancher lors de l'acquisition
- réponses fausses : visites des 2 trous non appâtés lors de l'acquisition, quelle que soit la couleur du plancher.

Ainsi, en mesurant par exemple, le paramètre 6 (pourcentage de visite par trou) sur le trou qui était appâté, nous obtenons le pourcentage de réponses correctes. En mesurant ce paramètre au niveau du trou qui était appâté dans l'autre discrimination, nous obtenons le pourcentage de réponses interférentes, et en mesurant ce paramètre au niveau des 2 trous non appâtés (communs aux deux discriminations), nous obtenons le pourcentage de réponses fausses.

## 2. Résultats

### a. Acquisition (Cf. Figure IV.6)

Les animaux étant soumis à l'acquisition de deux discriminations successives, l'apprentissage de la deuxième discrimination peut être influencé par celui de la première. Nous avons donc analysé le paramètre 6 (c'est à dire le pourcentage de visite par trou), représentatif de l'aspect strictement mnésique de la tâche ainsi que le paramètre 4 (le nombre total de visites dans les 4 trous), représentatif de l'activité exploratoire des animaux, lors de la phase d'acquisition afin d'évaluer l'impact de la première acquisition sur la seconde.

Dans la mesure où les animaux ne sont répartis en différents groupes, en



fonction du délai de rétention (5minutes ou 24 heures) et de la condition (choqués ou non choqués) qu'après l'acquisition, cette étude porte sur l'ensemble des animaux (N = 107).

Une analyse globale ANOVA en mesures répétées révèle un effet significatif de la valeur des trous (appâté versus non appâtés :  $F(1,106) = 72.44$  ;  $p < 0.0001$ ). En revanche, il n'y a aucun effet de la discrimination (discrimination 1 versus discrimination 2 :  $F(1,106) = 1.0$ ) et l'interaction «valeur des trous» X « Discrimination » n'est pas significative non plus ( $F(1,106) < 1.0$ ). En d'autres termes, les animaux visitent plus fréquemment le trou appâté que les 3 trous non appâtés réunis , quelle que soit la discrimination (Pour la discrimination 1 , le pourcentage de visite du trou appâté est  $66 \pm 2.9\%$  et le pourcentage de visite des 3 trous non appâtés réunis est  $34 \pm 2.9\%$  ; Pour la discrimination 2 , le pourcentage de visite du trou appâté est  $64.8 \pm 1.8\%$  et le pourcentage de visite des 3 trous non appâtés réunis est de  $35.2 \pm 1.8\%$ ). Ces résultats semblent suggérer que l'acquisition de la première discrimination n'influence pas le comportement des animaux lors de l'acquisition de la deuxième discrimination, ce qui semble très étonnant ! Cependant, si on analyse plus précisément la répartition des visites des 3 trous non appâtés lors de l'apprentissage de la seconde discrimination, on voit apparaître un effet significatif de la valeur des trous non appâtés ( les 2 trous faux, c'est à dire jamais appâtés versus le trou interférent, c'est à dire appâté lors de l'acquisition de la discrimination précédente :  $F(2,106) = 28.86$  ;  $p < 0.0001$ ). En d'autres termes lors de l'apprentissage de la seconde discrimination, les animaux visitent plus fréquemment le trou interférent non appâté ( $18.1 \pm 1.5\%$  de visites) que chacun des deux trous faux ( $10 \pm 0.9\%$  et  $7 \pm 0.6\%$  respectivement).

L'analyse des fréquences totales de visite des trous indique qu'il n'y a aucune

différence entre l'acquisition de la première discrimination et celle de la seconde ( $42.3 \pm 2.3$  et  $44.52 \pm 2.3$  visites totales respectivement ;  $F < 1.0$ ). En d'autres termes, le premier apprentissage ne modifie pas l'activité exploratoire globale des animaux lors du second apprentissage.

En résumé, les résultats de la phase d'acquisition indiquent que l'apprentissage de la 2<sup>ème</sup> discrimination est influencé par celui de la 1<sup>ère</sup>. En effet, lors de l'apprentissage de la 2<sup>ème</sup> discrimination, le trou interférent (appâté lors de l'acquisition précédente) n'est plus neutre et il est plus fréquemment visité que les autres trous non appâtés, néanmoins, il reste moins visité que le trou appâté. En revanche, l'activité exploratoire des animaux n'est pas modifiée d'une acquisition à l'autre.

Pour faciliter l'exposé, nous traiterons les résultats obtenus au délai de rétention de 5 minutes puis les résultats obtenus au délai de rétention de 24 heures successivement.

#### b. Rétention : résultats pour le délai de rétention de 5 minutes

Au délai de rétention de 5 minutes, les animaux ont été répartis en 4 groupes :

- Interférence rétroactive ; non choqués ; N=10 : **NC1**
- Interférence proactive ; non choqués ; N=10 : **NC2**
- Interférence rétroactive ; choqués ; N=8 : **C1** (2 animaux ont été exclus de l'analyse car ils sont restés totalement immobiles pendant toute la durée du test)
- Interférence proactive ; choqués ; N=10 : **C2**

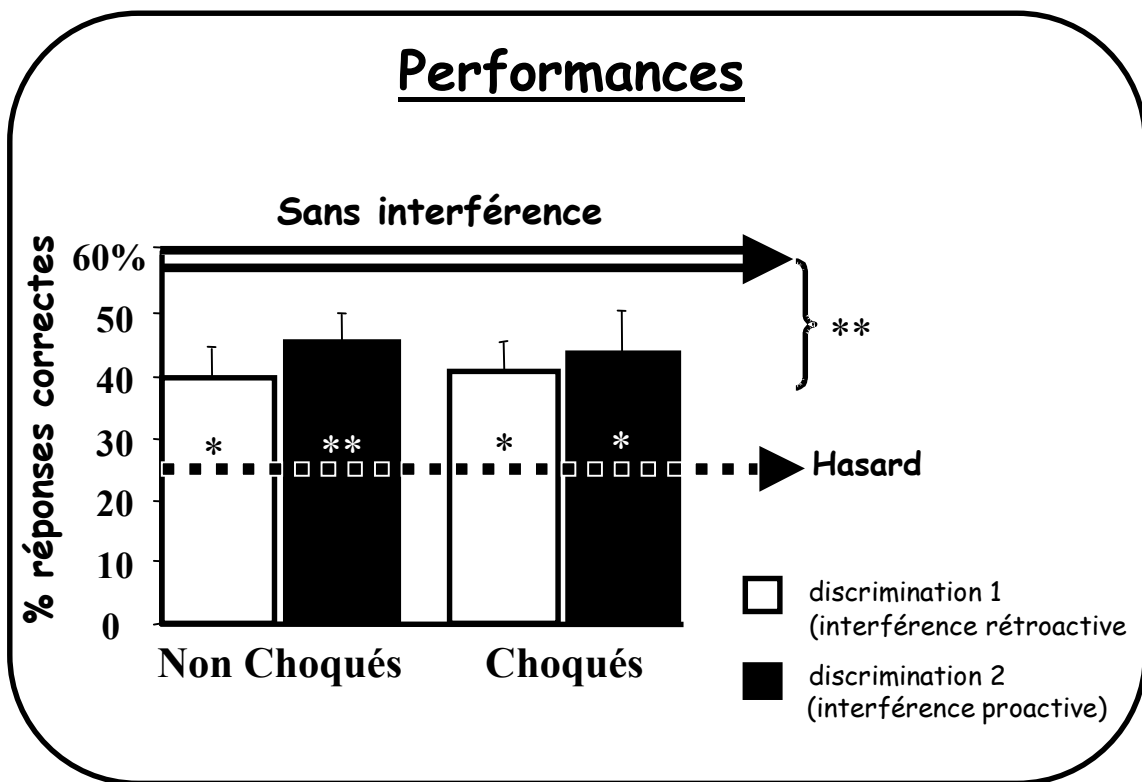


Figure IV.7 : Analyse des performances pour l'expérience « avec interférence » : effet du choc électrique et du type d'interférence au délai de rétention de 5 minutes

*i) Performances (Cf. Figure IV.7)*

♦ **Comparaison interférence rétroactive, interférence proactive et sans interférence**

Remarque : les résultats de la condition « sans interférence » que nous utilisons dans l'analyse qui suit sont ceux des animaux de l'expérience décrite antérieurement (pour le délai de rétention de 5 minutes)

L'analyse globale des résultats indique un effet Interférence significatif ( $F(2,54) = 6.8$  ;  $p = 0.0023$ ). Par contre, il n'y a aucun effet significatif du choc ( $F < 1.0$ ) et l'interaction Choc X Interférence n'est pas significative ( $F < 1.0$ ). Plus précisément, les performances des animaux sans interférence ( $59.3 \pm 2.7$  % de réponses correctes) sont significativement meilleures que celles des animaux placés en situation d'interférence proactive ( $44.7 \pm 4.4$  % ;  $p = 0.005$ ) ou rétroactive ( $41.1 \pm 3.6$  % ;  $p = 0.0008$ ), que les animaux aient reçu ou non un choc électrique.

♦ **Comparaison interférence rétroactive et interférence proactive**

L'analyse globale des résultats ne montre aucun effet significatif du type d'interférence ( $F < 1.0$ ) ni du choc ( $F < 1.0$ ). L'interaction Interférence X Choc n'est pas non plus significative ( $F < 1.0$ ). En revanche, les performances pour les 4 groupes NC1 , NC2, C1 et C2 sont significativement supérieures au hasard:  $t = 3.1$ ;  $p = 0.01$ ,  $t = 4.4$  ;  $p = 0.002$ ,  $t = 3.0$  ;  $p = 0.02$  et  $t = 2.4$  ;  $p = 0.04$  respectivement.

*ii) Activité exploratoire*

L'analyse globale indique que ni l'interférence ( $F < 1.0$ ), ni le choc ( $F < 1.0$ ) n'ont d'effets significatifs sur l'activité exploratoire. L'interaction Interférence X Choc n'est pas significative ( $F < 1.0$ ).

**En résumé, les résultats indiquent que, pour un délai de rétention de 5**

## Performances

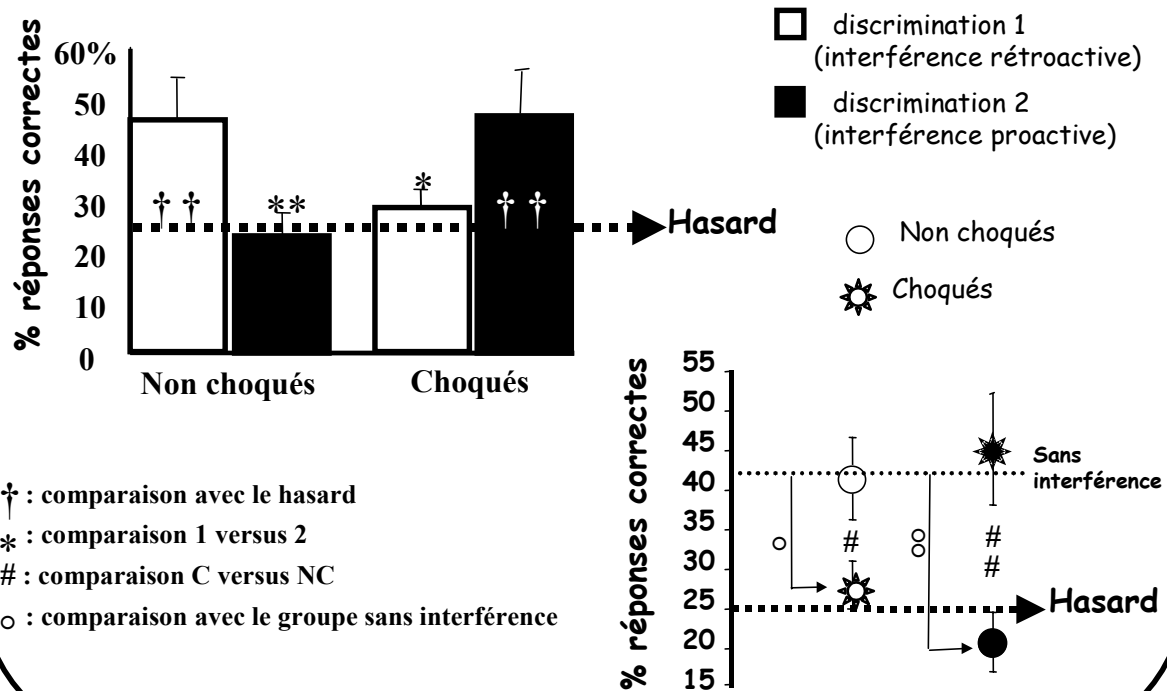


Figure IV.8 : Analyse des performances pour l'expérience « avec interférence »: effet du choc électrique et du type d'interférence au délai de rétention de 24 heures

minutes, les animaux placés en situation d'interférence (qu'elle soit proactive ou rétroactive) présentent des performances significativement inférieures aux souris ayant appris une seule discrimination. Leurs performances demeurent cependant significativement supérieures au hasard. Le stress aigu administré avant l'essai de rétention n'a aucun effet sur les performances, quel que soit le type d'interférence (proactive, rétroactive ou sans). De plus, ni le choc, ni le type d'interférence n'affectent l'activité exploratoire des animaux.

#### c. Rétention : résultats pour le délai de rétention de 24 heures

Au délai de rétention de 24 heures, les animaux ont été répartis en 4 groupes :

- Interférence rétroactive ; non choqués ; N=13 : **NC1**
- Interférence proactive ; non choqués ; N=12 : **NC2**
- Interférence rétroactive ; choqués ; N=11 : **C1**
- Interférence proactive ; choqués ; N=13 : **C2**

##### *i) Performances (Cf. Figure IV.8)*

###### ♦ Comparaison interférence rétroactive, interférence proactive et sans interférence

Remarque : les résultats de la condition « sans interférence » que nous utilisons dans l'analyse qui suit sont ceux des animaux de l'expérience décrite antérieurement (pour le délai de rétention de 24 heures)

L'analyse globale indique que ni l'interférence ( $F(2,62) = 1.6$  ;  $p = 0.2$ ) ni le choc ( $F < 1.0$ ) n'ont d'effet propre sur le pourcentage de réponses correctes. Par contre, l'interaction Interférence X Choc est significative ( $F(2,62) = 7.1$  ;  $p = 0.0015$ ). Plus précisément, parmi les animaux non choqués, les souris placées en

situation d'interférence proactive (discrimination 2) sont significativement perturbées ( $20.8 \pm 3.7\%$  de réponses correctes) par rapport à la situation sans interférence ( $42.1 \pm 6.7\%$  de réponses correctes ;  $p = 0.008$ ) alors que les animaux placés en situation d'interférence rétroactive (discrimination 1) présentent des performances ( $41.5 \pm 5.2\%$  de réponses correctes) comparables au groupe sans interférence ( $p = 0.9$ ). Au contraire, parmi les animaux choqués, les animaux placés en situation d'interférence rétroactive présentent une perturbation, par rapport au groupe sans interférence, proche de la signification statistique ( $28.0 \pm 3.0\%$  versus  $42.3 \pm 4.4\%$  de réponses correctes ;  $p = 0.06$ ) alors que les animaux en situation d'interférence proactive ont un niveau de performance ( $45.1 \pm 6.9\%$ ) comparable aux animaux sans interférence ( $p = 0.7$ ).

♦ **Comparaison interférence rétroactive et interférence proactive**

L'analyse globale des résultats ne montre aucun effet significatif du type d'interférence ( $F < 1.0$ ) ni du choc ( $F(1,45) = 1.09$  ;  $p = 0.3$ ). En revanche, l'interaction Interférence X Choc est significative ( $F(1,45) = 13.4$  ;  $p = 0.0007$ ). Plus précisément, les animaux non choqués répondent significativement mieux sur la 1<sup>ère</sup> discrimination que sur la 2<sup>ème</sup> (animaux NC1 :  $41.5 \pm 5.2\%$  de réponses correctes versus animaux NC2 :  $20.8 \pm 3.7\%$  de réponses correctes ;  $F(1,23) = 10.1$  ;  $p = 0.004$ ) alors que les animaux choqués répondent significativement moins bien sur la 1<sup>ère</sup> discrimination que sur la 2<sup>ème</sup> (animaux C1 :  $28.0 \pm 3\%$  de réponses correctes vs animaux C2 :  $45.1 \pm 6.9\%$  de réponses correctes ;  $F(1,22) = 4.5$  ;  $p = 0.04$ ). De plus, le choc électrique réduit significativement les performances sur la 1<sup>ère</sup> discrimination ( $F(1,22) = 4.5$  ;  $p = 0.04$ ) alors qu'il augmente significativement les performances sur la 2<sup>ème</sup> discrimination ( $F(1,23) = 9.1$  ;  $p = 0.006$ ). On observe également que seuls les groupes C2 et NC1 répondent significativement au-dessus du niveau du hasard ( $t = 2.9$  ;  $p = 0.01$  et  $t = 3.15$  ;  $p = 0.008$  respectivement) alors que les groupes C1 et NC2 répondent au hasard

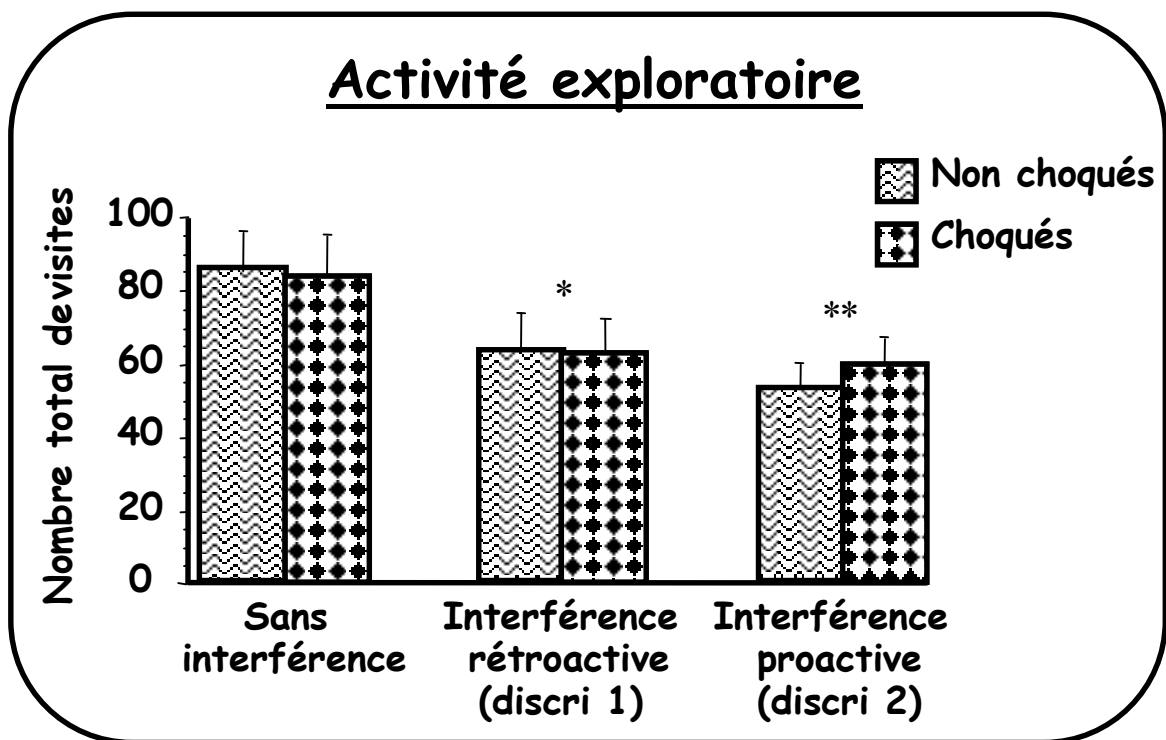


Figure IV.9 : Analyse de l'activité exploratoire pour l'expérience de DSCS  
 Effet du choc électrique et du type d'interférence au délai de rétention de 24 heures



( $t = 0.9$  ;  $p = 0.3$  et  $t = -1.14$  ;  $p = 0.3$  respectivement).

*ii) Activité exploratoire (Cf. Figure IV.9)*

L'analyse globale indique que le choc n'a pas d'effet sur l'activité exploratoire des animaux ( $F < 1.0$ ). En revanche, on observe un effet significatif de l'interférence ( $F(2,62) = 3.99$  ;  $p = 0.02$ ). L'interaction Choc X Interférence n'est pas significative ( $F < 1.0$ ). En d'autres termes, les animaux soumis à l'interférence rétroactive ( $63 \pm 6.8$  visites totales) comme ceux soumis à l'interférence proactive ( $56.2 \pm 5.6$  visites totales) explorent significativement moins que les animaux du groupe sans interférence ( $83.9 \pm 8.5$  visites totales ; « rétroactive » vs « sans » :  $p = 0.03$  et « proactive » vs « sans » :  $p = 0.007$  respectivement).

**En résumé, au délai de rétention de 24 heures, les résultats indiquent i) que les animaux non choqués répondent mieux à la 1<sup>ère</sup> discrimination qu'à la 2<sup>ème</sup> discrimination. ii) que l'effet du stress est différent selon le type d'interférence : le choc améliore la restitution de la 2<sup>ème</sup> discrimination alors qu'il perturbe la restitution de la 1<sup>ère</sup> discrimination. iii) enfin, que l'interférence, qu'elle soit proactive ou rétroactive, réduit significativement l'activité exploratoire des animaux par rapport à la situation sans interférence.**

Au délai de rétention de 24 heures, certains groupes d'animaux répondent au hasard, rappelons qu'il s'agit des groupes NC2 et C1. Nous avons analysé les réponses incorrectes des groupes NC1, NC2, C1 et C2 afin de déterminer la nature des erreurs.

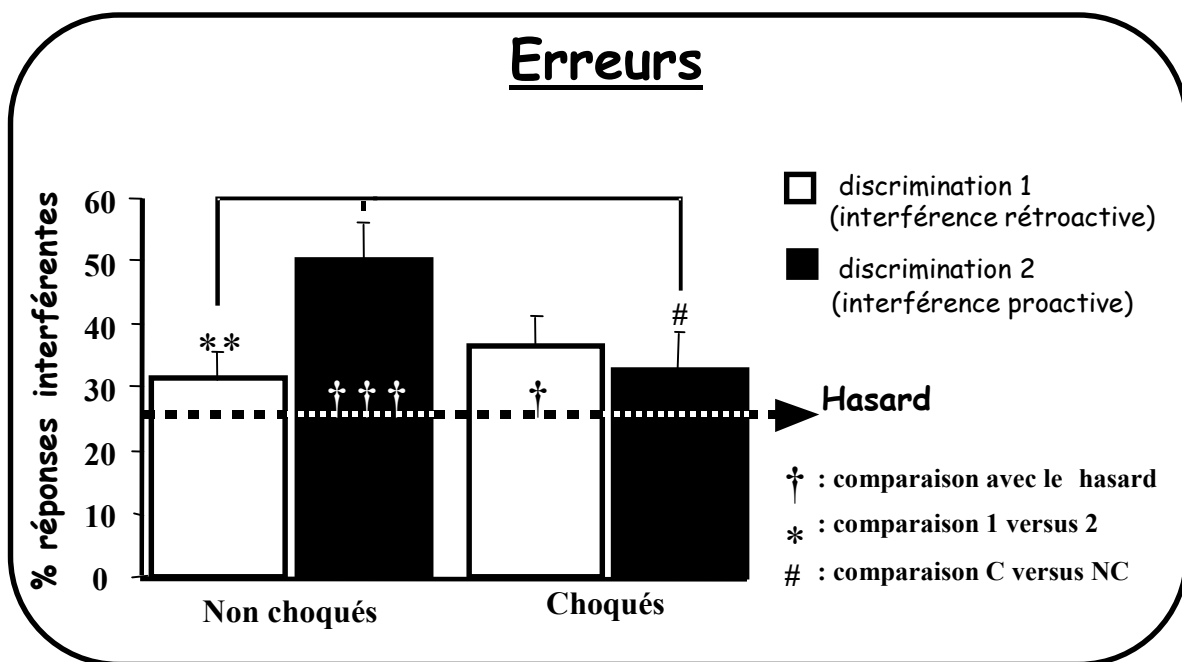


Figure IV.10 : Analyse des réponses interférentes pour l'expérience de DSCS  
Effet du choc électrique et du type d'interférence au délai de rétention de 24 heures

Les erreurs commises dans cette épreuve peuvent en effet être de 2 types (Cf. Figure IV.5, p.91) :

- les réponses «**interférentes**», qui correspondent à la visite d'un trou appâté lors de l'acquisition sur le plancher correspondant à l'autre discrimination.
- les réponses strictement «**fausses**» qui correspondent aux visites des 2 trous qui n'ont jamais été appâtés, quelle que soit la discrimination.

### *iii) Analyses du type d'erreur*

#### ♦ Réponses fausses

L'analyse globale indique que ni le type d'interférence ( $F(1,45) = 1.6$  ;  $p = 0.2$ ), ni le choc électrique ( $F < 1.0$ ) n'ont d'effet sur le pourcentage de réponses fausses. L'interaction Interférence X Choc n'est pas significative non plus ( $F(1,45) = 2.7$  ;  $p = 0.1$ ). De plus, le pourcentage de réponses fausses est toujours inférieur au hasard (50 % : i.e.  $2 \times 25\%$ ) pour les 4 groupes étudiés ( NC1 :  $t = -5.56$  ;  $p = 0.0001$  ; NC2 :  $t = -4.31$  ;  $p = 0.0012$  ; C1 :  $t = -2.27$  ;  $p = 0.02$  et C2 :  $t = -7.77$  ;  $p < 0.0001$ ).

#### ♦ Réponses interférentes (Cf. Figure IV.10)

L'analyse globale montre que ni le type d'interférence ( $F(1,45) = 2.25$  ;  $p = 0.14$ ), ni le choc électrique ( $F(1,45) = 1.6$  ;  $p = 0.2$ ) n'ont d'effet sur le pourcentage de réponses interférentes. En revanche, l'interaction Interférence X Choc est significative ( $F(1,45) = 5.4$  ;  $p = 0.02$ ). Une analyse plus détaillée indique que pour le groupe **non choqué**, les animaux réalisant la 2<sup>ème</sup> discrimination ont un pourcentage de réponses interférentes significativement plus élevé ( $50.3 \pm 3.3\%$ ) que les animaux réalisant la 1<sup>ère</sup> discrimination ( $31.4 \pm 5.6\%$  ;  $F(1,23) = 8.7$  ;  $p = 0.007$ ). Pour le groupe **choqué**, en revanche, il n'y a pas de différence significative entre les animaux réalisant la 1<sup>ère</sup> et la 2<sup>ème</sup> discrimination ( $F < 1.0$ ). De plus, les animaux choqués réalisant la 2<sup>ème</sup>

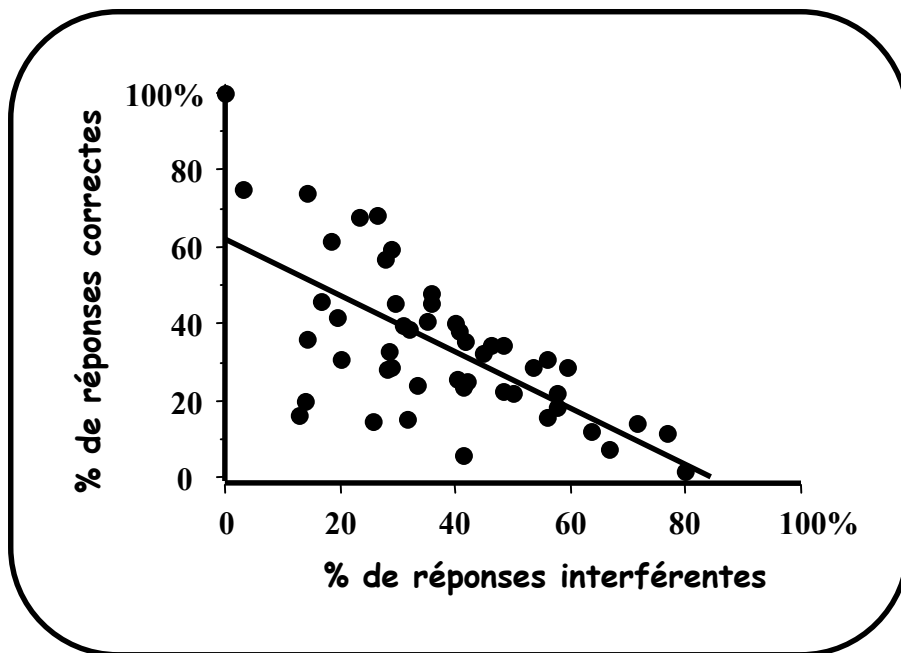


Figure IV.11 : pourcentage de réponses interférentes en fonction du pourcentage de réponses correctes pour l'expérience de DSCS au délai de rétention de 24 h

**discrimination**, présentent un pourcentage de réponses interférentes significativement inférieur ( $32.6 \pm 5.7\%$ ) à celui des animaux non choqués ( $50.3 \pm 5.6\%$ ;  $F(1,23) = 4.9$  ;  $p = 0.04$ ), alors qu'il n'y a aucune différence significative entre les animaux choqués et non choqués réalisant la 1<sup>ère</sup> **discrimination** ( $F < 1.0$ ).

Seuls les groupes NC2 et C1 présentent un pourcentage de réponses interférentes significativement supérieur au hasard (25%), alors que les groupes NC1 et C2 ont un taux de réponses interférentes comparable au hasard (NC2 :  $t = 4.5$  ;  $p = 0.0009$ , C1 :  $t = 2.5$  ;  $p = 0.03$ , NC1 :  $t = 1.9$  ;  $p = 0.085$  et C2 :  $t = 1.3$  ;  $p = 0.2$ ). Enfin, le pourcentage de réponses interférentes est négativement corrélé au pourcentage de réponses correctes, et ce pour tous les groupes ( $r = -0.67$  ;  $p < 0.0001$ )(Cf. Figure IV.11).

En résumé, si on confronte les résultats concernant l'analyse du type d'erreur et les résultats concernant les performances, on remarque que pour les groupes NC2 et C1, le faible pourcentage de réponses correctes est corrélé à un fort pourcentage de réponses interférentes. De même, le fort taux de réponses correctes des groupes NC1 et C2 est corrélé à un faible taux de réponses interférentes. En d'autres termes, plus le taux de réponses correctes est élevé, plus le taux de réponses interférentes est faible, pour tous les groupes. Le pourcentage de réponses strictement fausses, quant à lui, est significativement inférieur au hasard pour les 4 groupes et n'est pas modifié par le stress aigu.

Ces données indiquent, d'une part, que les animaux apprennent à éviter systématiquement les 2 trous jamais appâtés dans les deux discriminations (le taux de réponses fausses est significativement inférieur au hasard). Cette réponse d'évitement n'est pas modifiée par le choc électrique.

D'autre part, le pourcentage de réponses correctes est toujours négativement corrélé au pourcentage de réponse interférentes (pour les animaux choqués comme pour les animaux non choqués), ce qui signifie que les variations (diminution ou augmentation) du pourcentage de réponses correctes sont toujours associées à une variation inverse du pourcentage de réponses interférentes. En d'autres termes les différences de performances mnésiques que l'on observe entre les deux discriminations, avec ou sans choc électrique préalable, semblent résulter d'un accroissement ou d'une réduction de l'interférence (proactive ou rétroactive) plutôt que d'un oubli total à proprement parler (le pourcentage de réponses fausses ne varie pas) .

Dans notre protocole expérimental, le traitement pré-test au cours duquel les animaux choqués reçoivent le choc électrique, se déroule dans un appareil inconnu pour les animaux et dans une pièce également nouvelle. Les animaux non choqués, quant à eux, sont placés strictement dans les mêmes conditions mais ne reçoivent aucun choc électrique. La nouveauté de l'appareil et de la pièce est une source potentielle de stress qui pourrait influencer la restitution mnésique, au même titre que le choc électrique. Si tel était le cas, les résultats obtenus ci-dessus seraient en réalité, la résultante de plusieurs paramètres (nouveauté + choc) Nous avons donc voulu étudier l'impact de l'exposition à cet environnement non familier sur la restitution des 2 discriminations.

Dans ce but, nous avons comparé les performances des animaux non choqués exposés à la nouveauté (NCe) aux performances d'animaux non choqués non exposés à la nouveauté (NC ne), c'est à dire placés en test directement après leur sortie de l'animalerie.

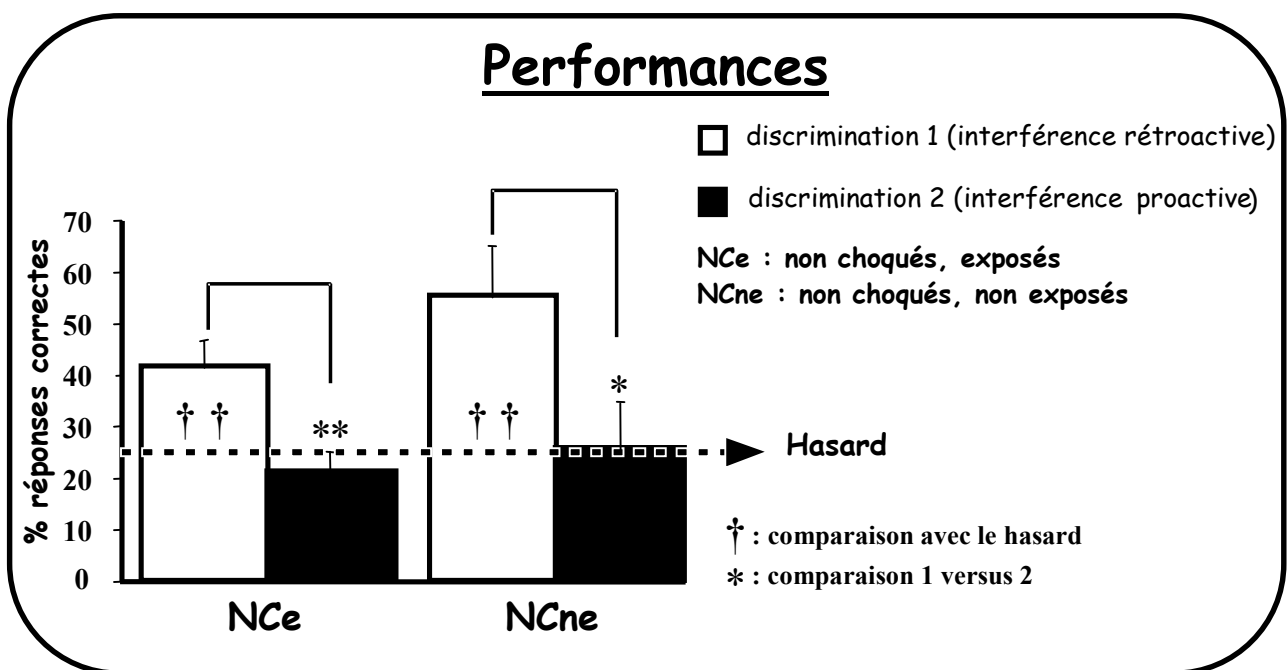


Figure IV.12 : Analyse des performances pour l'expérience de DSCS: effet de l'exposition à la nouveauté et du type d'interférence au délai de rétention de 24 h

#### d. Evaluation de l'impact de la nouveauté sur les performances

Pour cette expérience, les animaux ont été répartis en 4 groupes :

- Animaux exposés : il s'agit des animaux placés dans la chambre de conditionnement, dans la pièce de conditionnement, 5 minutes avant l'essai de rétention, mais n'ayant pas reçu de choc électrique. C'est un environnement totalement nouveau pour eux.
  - Interférence rétroactive ; non choqués ; exposés ; N=13 : **NC1e**
  - Interférence proactive ; non choqués ; exposés ; N=12 : **NC2e**
- Animaux non exposés : Il s'agit d'animaux soumis à l'essai de rétention immédiatement à leur sortie de l'animalerie, donc n'ayant pas été préalablement confrontés à l'environnement nouveau.
  - Interférence rétroactive ; non choqués ; non exposés ; N= 10 : **NC1ne**
  - Interférence proactive ; non choqués ; non exposés ; N=10 : **NC2ne**

##### *i) Performances (Cf. Figure IV.12)*

L'analyse globale des résultats indique que l'exposition n'a pas d'effet significatif sur la restitution ( $F(1,41) = 1.6$  ;  $p = 0.2$ ). En revanche, on observe un effet significatif du type d'interférence ( $F(1,41) = 12.9$  ;  $p = 0.0009$ ). L'interaction Exposition X Interférence n'est pas significative ( $F < 1.0$ ). Ces résultats indiquent que tous les animaux répondent significativement mieux à la 1<sup>ère</sup> discrimination qu'à la 2<sup>ème</sup> discrimination, qu'ils soient exposés à la nouveauté (NC1e :  $41.5 \pm 5.2\%$  de réponses correctes versus NC2e :  $20.8 \pm 3.7\%$  de réponses correctes ;  $F(1,23) = 10.13$  ;  $p = 0.004$ ) ou non exposés à la nouveauté (NC1ne :  $55.1 \pm 9.6\%$  de réponses correctes versus NC2ne :  $25.2 \pm 9.5\%$  de réponses correctes ;  $F(1,18) = 4.58$  ;  $p = 0.04$ ). De plus, seuls les groupes NC1e et



## Erreurs

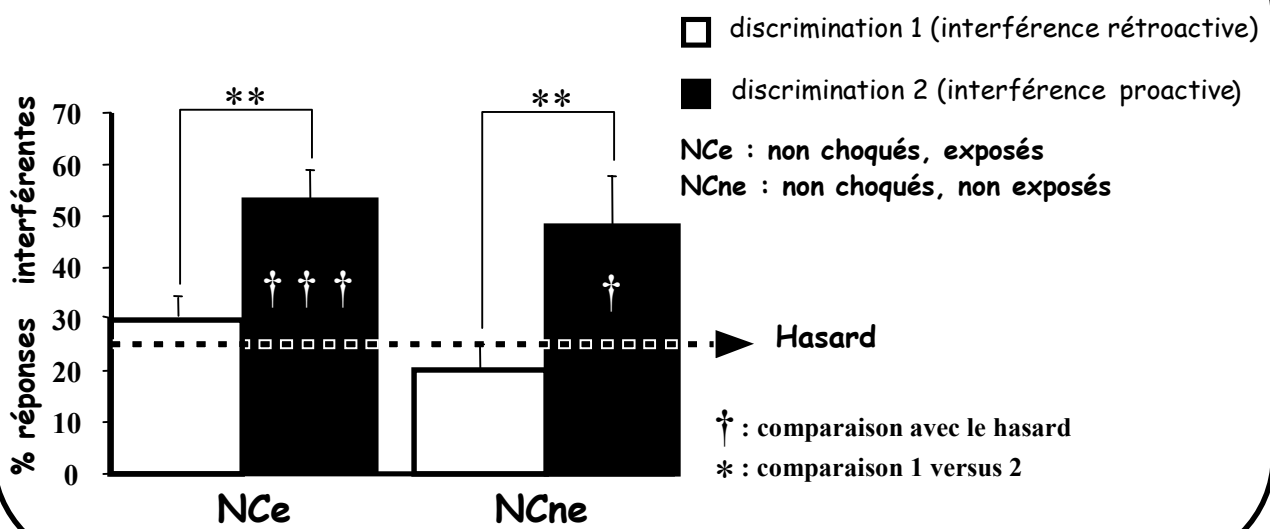


Figure IV.13 : Analyse des réponses interférentes: effet de l'exposition à la nouveauté et du type d'interférence au délai de rétention de 24 heure

NC1ne ont un niveau de performances significativement supérieur au hasard ( $t = 3.15$  ;  $p = 0.008$  et  $t = 3.12$  ;  $p = 0.01$  respectivement), alors que les groupes NC2e et NC2ne répondent au hasard ( $t = -1.14$  ;  $p = 0.3$  et  $t = 0.022$  ;  $p = 0.9$  respectivement). Ces données confirment celles obtenues précédemment chez les souris non choquées.

### *ii) Analyse des erreurs*

#### ◆ Réponses fausses

L'analyse globale indique que ni le type d'interférence ( $F < 1.0$ ), ni l'exposition ( $F < 1.0$ ) n'ont d'effet sur le pourcentage de réponses fausses. L'interaction Interférence X Exposition n'est pas significative non plus ( $F < 1.0$ ).

De plus, le pourcentage de réponses strictement fausses est inférieur au hasard pour les 4 groupes étudiés ( $p < 0.001$  pour toutes les comparaisons), ce qui signifie que toutes les souris ont parfaitement appris à éviter les trous non appâtés.

#### ◆ Réponses interférentes (Cf. Figure IV.13)

L'analyse globale des résultats indique que l'exposition n'a pas d'effet significatif sur le pourcentage de réponses interférentes ( $F(1,41) = 2.1$  ;  $p = 0.1$ ). En revanche, on observe un effet significatif du type d'interférence ( $F(1,41) = 16.4$  ;  $p = 0.0002$ ). L'interaction Exposition X Interférence n'est pas significative ( $F < 1.0$ ). Ces résultats montrent que les animaux exposés comme les animaux non exposés présentent un pourcentage d'interférence comparable ( $p = 0.2$ ) et significativement plus élevé sur la 2<sup>ème</sup> discrimination que sur la 1<sup>ère</sup> discrimination ( $p = 0.0003$ ). De plus, le pourcentage de réponses interférentes n'est supérieur au hasard que sur la 2<sup>ème</sup> discrimination pour les 2 groupes (NC2e :  $t = 4.5$  ;  $p = 0.0009$  et NC2ne :  $t = 2.46$  ;  $p = 0.03$ ). Enfin, le pourcentage de réponses interférentes est négativement et étroitement corrélé au

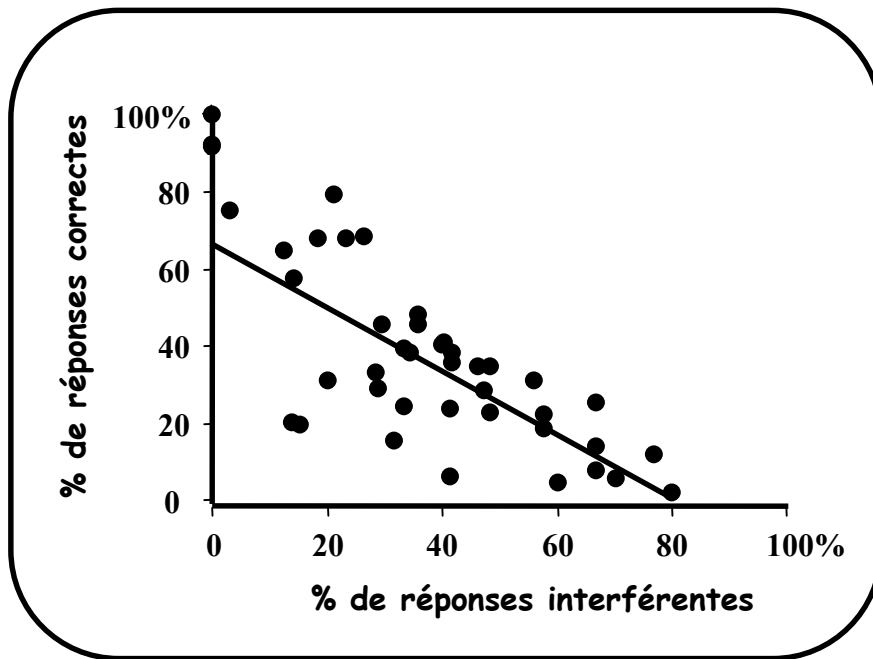


Figure IV.14 : Représentation graphique du pourcentage de réponses interférentes en fonction du pourcentage de réponses correctes pour les animaux Nce et NCe

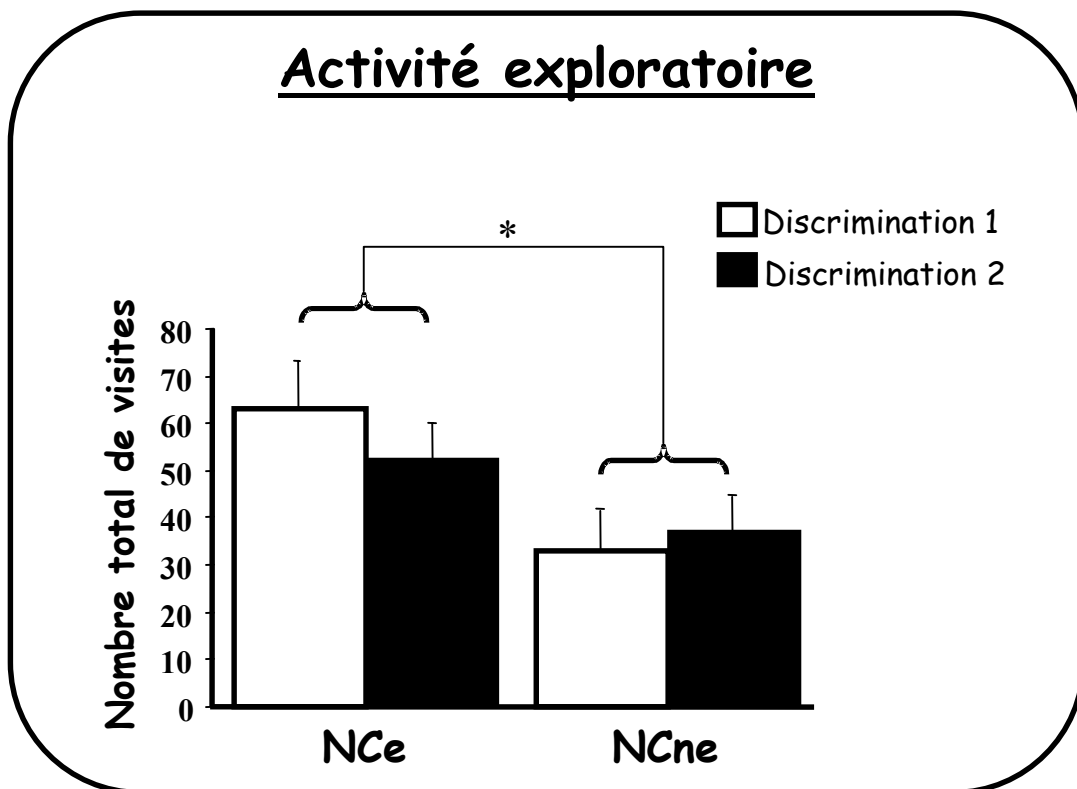


Figure IV.15 : Analyse de l'activité exploratoire : effet de l'exposition à la nouveauté et du type d'interférence

pourcentage de réponses correctes ( $r = -0.685$  ;  $p < 0.0001$ ) (Cf. Figure IV.14).

*iii) Activité exploratoire (Cf. figure IV.15)*

L'analyse globale indique que l'exposition à l'environnement nouveau lors de la phase pré-test, influence significativement l'activité exploratoire ( $F(1,41) = 6.8$  ;  $p = 0.01$ ). Par contre, il n'y a aucun effet du type d'interférence ( $F < 1.0$ ) et l'interaction Exposition X Interférence n'est pas significative ( $F < 1.0$ ). Ces résultats montrent que les animaux préalablement exposés à la nouveauté explorent significativement plus l'environnement auquel ils sont confrontés lors de la phase de rétention ( $58.1 \pm 6.4$  visites totales) que les animaux non exposés préalablement à la nouveauté ( $35.1 \pm 5.5$  visites totales ;  $F(1,43) = 7.1$  ;  $p = 0.01$ ), et ce, quel que soit le type d'interférence.

**En résumé, nos résultats montrent que l'exposition préalable au contexte non familier de la phase pré-test ne modifie pas la restitution par rapport à un groupe d'animaux non exposés : en effet, le profil des pourcentages de réponses correctes, interférentes et strictement fausses, en fonction du type d'interférence (discrimination 1 ou discrimination 2), n'est pas significativement différent entre ces 2 groupes d'animaux. Dans notre protocole, l'exposition des animaux Choqués et Non choqués à la nouveauté, en phase pré-test, ne semble pas être un paramètre affectant les résultats. Il est intéressant de noter cependant, que l'exposition préalable à la nouveauté augmente l'activité exploratoire des animaux lors de l'essai de rétention.**

e. Evaluation de l'importance de la variation contextuelle : discriminations spatiales sérielles non contextuelles (en collaboration avec Dagmar Rachbauer, Etudiante en thèse Univ Salzburg, Autriche, Boursière ERASMUS)

Dans quelle mesure la variation contextuelle (2 planchers différents) entre les deux discriminations successives peut-elle contribuer à l'expression des performances ? Afin de répondre à cette question, des souris ont été soumises à un protocole consistant en l'acquisition de deux discriminations spatiales sérielles comme précédemment exposé mais effectuées sur un plancher identique (couleur grise).

Pour cette expérience, les animaux ont été répartis en 2 groupes :

- Animaux Non choqué : N = 10
- Animaux Choqués : N = 9.

#### *i) Acquisition*

Les résultats de la phase d'acquisition ne seront pas détaillés ici, dans la mesure où ils sont comparables à ceux décrits précédemment. En résumé, ces résultats indiquent que l'apprentissage de la 2<sup>ème</sup> discrimination est influencé par celui de la 1<sup>ère</sup>. En effet, lors de l'apprentissage de la 2<sup>ème</sup> discrimination, le trou appâté lors de l'acquisition précédente n'est plus neutre et il est plus fréquemment visité que les autres trous non appâtés, néanmoins, il reste moins visité que le trou appâté. L'activité exploratoire des animaux, quant à elle, n'est pas modifiée d'une acquisition à l'autre.

#### *ii) Performances* (Cf. Figure IV.16)

L'analyse globale en mesures répétées portant sur le pourcentage de visite des deux trous renforcés lors de l'acquisition des deux discriminations indique un effet significatif de la mesure répétée ( $F(1,17) = 9.2$  ;  $p = 0.0075$ ) ainsi qu'un

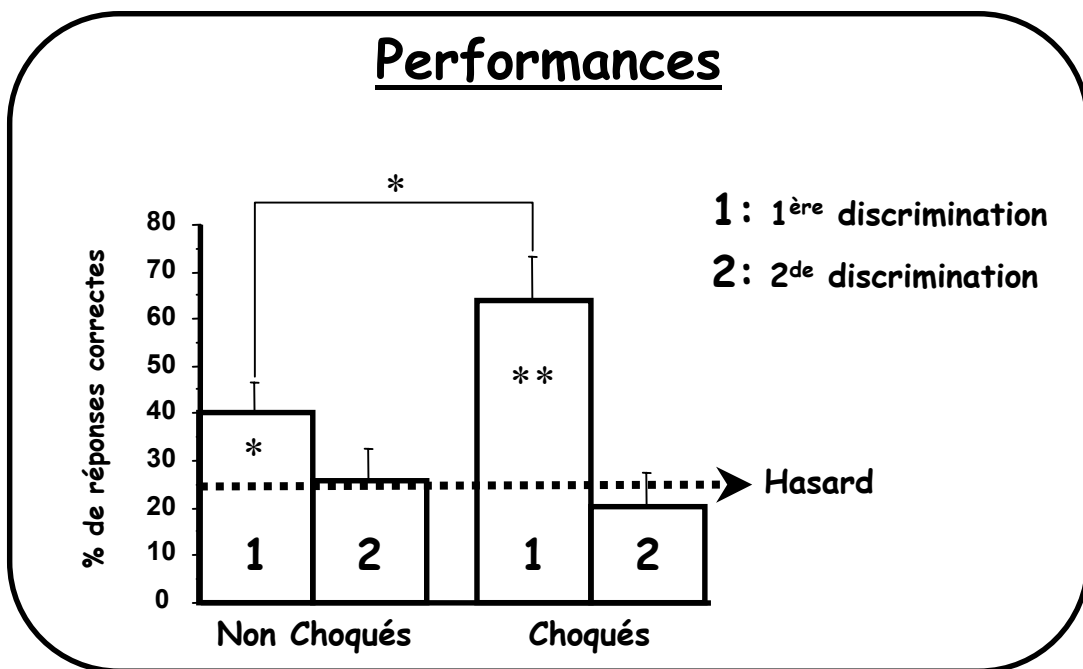


Figure IV.16 : Analyse des performances pour l'expérience sans variation contextuelle

effet significatif du choc électrique ( $F(1,17) = 5.4$  ;  $p = 0.03$ ). Plus précisément, les animaux non choqués comme les animaux choqués restituent la première information significativement au-dessus du hasard ( $p = 0.045$  et  $p = 0.0023$  pour les non choqués et les choqués respectivement) alors que la seconde est au hasard dans les deux cas ( $p = 0.9$  et  $p = 0.5$  pour les non choqués et les choqués respectivement) . De plus, le choc facilite la restitution de cette première information ( $64.0 \pm 8.9\%$  de réponses correctes) par rapport aux animaux non choqués ( $40.2 \pm 6.5\%$  de réponses correctes ;  $F(1,17) = 5.8$  ;  $p = 0.03$ ) alors qu'il n'a pas d'effet sur la seconde information ( $25.7 \pm 6.9\%$  et  $20.3 \pm 7.1\%$  de réponses correctes pour les non choqués et les choqués respectivement).

**En résumé, nos résultats montrent que lorsque le contexte reste identique pour l'acquisition des deux discriminations sérielles, la première discrimination est mieux restituée que la seconde. Le choc électrique améliore la restitution de la première discrimination et reste sans effet sur la seconde. Le profil des performances observé ici en l'absence de choc est tout à fait comparable à celui des animaux de l'expérience avec la variation contextuelle : la première information est restituée au-dessus du hasard et mieux que la seconde. En revanche, dans cette expérience, le choc améliore la restitution de la première discrimination et ne modifie pas celle de la seconde alors que dans l'expérience avec la variation contextuelle, c'est l'inverse, il perturbe la restitution de la 1<sup>ère</sup> discrimination et améliore la restitution de la 2<sup>ème</sup> discrimination.**

Nous venons donc de montrer que l'application d'un choc électrique 5 minutes avant l'essai de rétention peut moduler la restitution mnésique dans le protocole de discriminations spatiales contextuelles sérielles (DSCS), pour un délai de rétention de 24 heures.

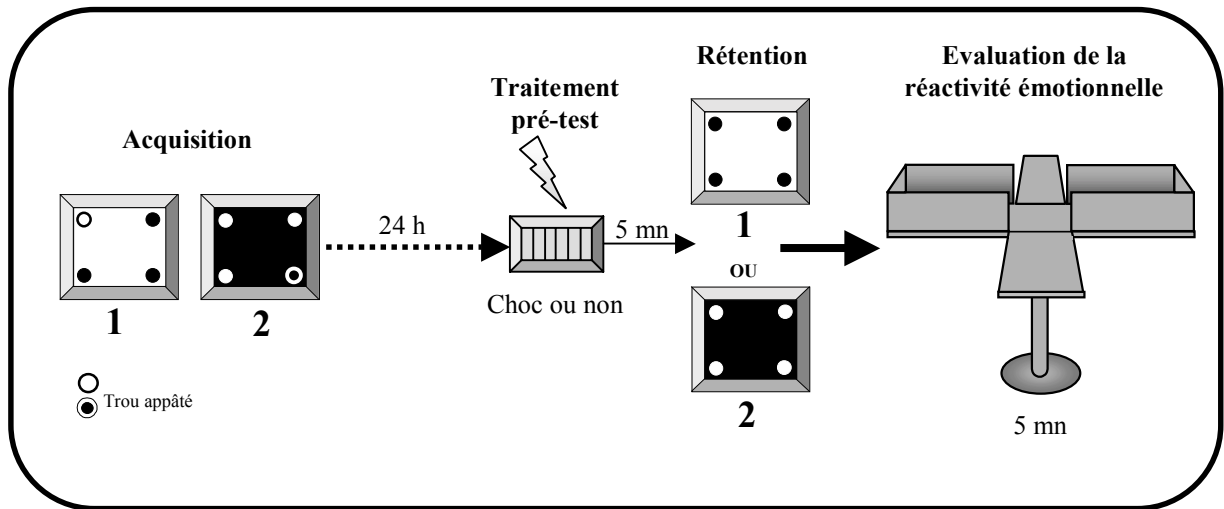


Figure IV.17 : Mesure de la réactivité émotionnelle

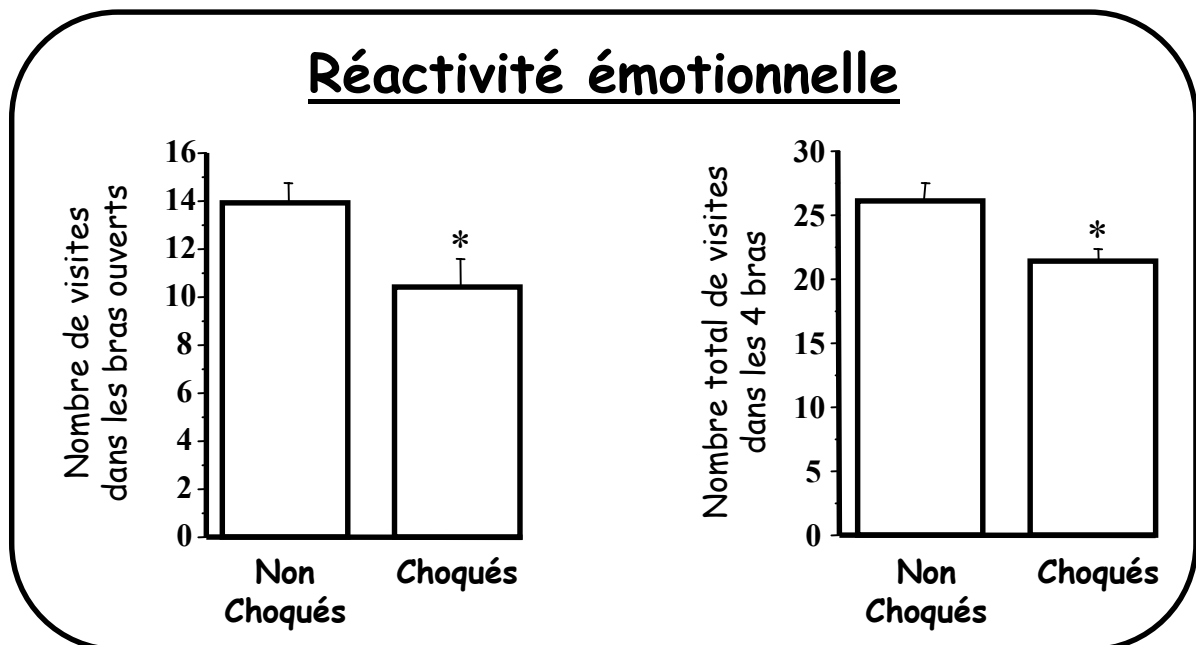


Figure IV.18 : Effet du choc électrique sur la réactivité émotionnelle mesurée dans le labyrinthe en croix surélevé



Nous avons reproduit cette expérience afin d'évaluer l'impact du choc électrique sur la réactivité émotionnelle des animaux.

#### f. Effets du choc électrique sur la réactivité émotionnelle

##### *i) Protocole (Cf. Figure IV.17)*

Les souris ont été soumises au protocole décrit précédemment et immédiatement après l'essai de rétention, elles ont été placées dans le **labyrinthe en croix surélevé** pour une durée de 5 minutes.

##### *ii) Résultats (Cf. Figure IV.18)*

L'analyse porte sur un groupe d'animaux non choqués (N=9) et un groupe d'animaux choqués (N=7).

L'analyse globale indique que le choc électrique a un effet significatif sur le nombre d'entrées dans les bras ouverts ( $F(1,14) = 5.95$  ;  $p = 0.03$ ) et sur le nombre d'entrées totales dans les 4 bras ( $F(1,14) = 6.8$  ;  $p = 0.02$ ). Plus précisément, les animaux ayant reçu le choc électrique visitent significativement moins fréquemment les bras ouverts que les animaux non choqués ( $10.4 \pm 1.1$  et  $13.9 \pm 0.8$  entrées dans les bras ouverts respectivement). Le nombre de visites dans les bras fermés n'étant pas influencé par le choc électrique ( $F(1,14) = 1.5$  ;  $p = 0.2$ ), la diminution du nombre d'entrées dans les bras ouverts se répercute logiquement sur le nombre de visites totales dans les 4 bras, plus faible chez les animaux choqués que chez les animaux non choqués ( $21.4 \pm 0.85$  et  $26.1 \pm 1.4$  visites totales respectivement ;  $p = 0.02$ ).

**En résumé, les données montrent que le choc électrique délivré 5 minutes avant l'essai de rétention à un effet de type « anxiogène ».**

### C. CONCLUSION SUR LE MODELE COMPORTEMENTAL

Notre objectif était d'élaborer un protocole comportemental permettant de mettre en évidence une modulation de la restitution mnésique par le stress.

Au cours des différentes expériences qui nous ont conduit à l'élaboration d'un tel modèle nous avons obtenu un certain nombre de données qui concernent tout d'abord les caractéristiques psychologiques de notre épreuve chez l'animal normal et dans des conditions normales (c'est à dire sans stress) :

L'épreuve que nous avons mise au point permet d'objectiver l'effet du délai de rétention : les performances sont meilleures pour un délai de rétention de 5 minutes que pour un délai de rétention de 24 heures. C'est un phénomène classiquement observé dans diverses épreuves mnésiques, chez l'homme comme chez l'animal, et qui reflète l'oubli, c'est à dire la perte progressive des informations acquises en fonction du temps. Cependant, même pour le délai de rétention long, les performances sont au-dessus du hasard, l'oubli n'est donc pas total à 24 heures.

L'épreuve permet d'étudier l'effet de l'accroissement du nombre d'items à retenir autrement dit, l'augmentation de la charge mnésique (une information unique versus 2 informations sérielles). Ainsi, on met en évidence que l'ajout d'un item supplémentaire réduit les performances, qui restent cependant au-dessus du hasard, et ce, que le délai de rétention soit court ou long. Cette réduction des performances peut s'expliquer en terme d'interférences. En effet, selon divers auteurs, un des facteurs majeurs de l'oubli est l'interférence (Butters et Cermak, 1980 ; Squire, 1982). Plusieurs théories tentent d'expliquer ce phénomène. Selon certains, la mémoire de chaque information d'une série se développe et décroît séparément de façon indépendante et au moment de l'essai

de rétention, le comportement résulte de la compétition entre les traces mnésiques, l'information associée à la trace mnésique la plus forte étant la mieux restituée par l'animal (Roberts et Grant, 1974, 1976). D'après d'autres auteurs, l'interférence résulterait d'une difficulté à se souvenir de l'ordre temporel des événements (D'Amato, 1973).

L'épreuve permet d'étudier la sensibilité aux interférences et permet de mesurer spécifiquement et respectivement le poids de l'interférence proactive (effet délétère de l'acquisition d'un apprentissage ancien sur la mémorisation d'une information nouvelle) et le poids de l'interférence rétroactive (effet délétère d'un apprentissage nouveau sur la mémorisation d'une information plus ancienne). Nous montrons ainsi que, dans les conditions normales (sans stress) et pour le délai de rétention long, les animaux présentent de bonnes performances pour la première information alors que les performances sont au hasard pour la deuxième information. Les mauvaises performances sur cette dernière sont liées à un taux important d'interférences proactives. En revanche, dans les mêmes conditions mais pour l'intervalle de rétention court, les performances sont identiques et supérieures au hasard pour la première comme pour la deuxième information. Le fait d'observer de l'interférence au délai de rétention long mais non court plaide d'avantage en faveur de la théorie des interférences qui considère que la mémoire de chaque information d'une série se développe et décroît séparément de façon indépendante (Roberts et Grant, 1974, 1976) plutôt que de la théorie selon laquelle l'interférence résulterait d'une difficulté à se souvenir de l'ordre temporel des événements (D'Amato, 1973).

Les résultats obtenus pour le délai de rétention long ne sont pas en accord avec les données classiques de la littérature. En effet, de nombreuses expériences montrent que lorsqu'un animal reçoit deux informations successives,

il choisit spontanément de se référer à la deuxième, or c'est exactement le contraire que nous observons. Il est vrai cependant que les données en question ont été obtenues à partir de protocoles différents du notre et pour des intervalles temporels beaucoup plus réduits. Mais il est possible que dans notre expérience, les performances élevées pour la première information ne reflètent pas le souvenir de cette information et soient en réalité liées à son ancienneté relative par rapport à la seconde information. Plus précisément, les animaux alterneraient et retourneraient plus fréquemment vers l'item le moins récent et donc le moins familier. Cette hypothèse semble cependant peu probable dans la mesure où il s'agit d'une épreuve renforcée; or on sait que le comportement d'alternance inné peut être aboli par l'utilisation de renforcement appétitif (discriminations spatiales). De plus, en rétention, les animaux ne revisitent pas ou peu les trous non renforcés qui pourtant sont les moins visités lors de l'acquisition. Enfin, l'observation des bandes vidéo révèle une obstination certaine de la part des animaux à visiter le premier trou, ce qui pourrait refléter la « frustration » en l'absence d'agent renforçant et de fait, témoigner de la force de ce souvenir. Les analyses portant sur la phase d'acquisition apportent certaines précisions. Les résultats montrent que le premier apprentissage influence le deuxième apprentissage. En effet, lors de ce dernier, on observe que les animaux visitent beaucoup plus le trou qui était renforcé lors du premier apprentissage que les 2 trous neutres. On pourrait logiquement penser que le fait de re-explorer ce trou, qui n'est alors plus renforcé, provoquerait une extinction. Il semble que ce ne soit pas le cas et qu'au contraire, ces visites consolident et renforcent l'apprentissage précédent, ou tout au moins la rétention de la localisation de la première information. En fait, il semble que lors de la seconde acquisition, il se produit une généralisation du renforcement (accessible dans un seul trou) aux zones les plus explorées, c'est à dire le trou appâté, certes, mais

aussi le trou précédemment appâté. Ces observations peuvent expliquer les meilleures performances pour la première discrimination que pour la seconde.

Par ailleurs, nos données indiquent que les animaux placés en conditions normales (c'est à dire sans stress) n'exploitent pas ou peu la variation contextuelle (changement de plancher) pour répondre lors de la restitution. En effet, dans la procédure sans changement de contexte (procédure sérielle) les performances sont comparables à celles observées avec le changement de plancher (procédure sérielle contextuelle). Dans les deux cas, les animaux répondent en fonction de l'ordre temporel : ils restituent bien la première information acquise et répondent au hasard à la seconde information. L'indice contextuel n'est pas pris en compte, soit qu'il n'a pas été acquis, soit qu'il n'est pas utilisé par l'animal lors de la restitution.

**L'ensemble des données recueillies chez l'animal normal et dans des conditions normales (sans le stress) indique que notre épreuve regroupe un certain nombre de conditions (sensibilité au délai de rétention, sensibilité à la charge d'informations, sensibilité à l'interférence, restitution en fonction de l'ordre temporel...) qui en font un test pertinent pour l'étude des processus mnésiques.**

Nous étudions les effets du stress sur la restitution mnésique. Nos résultats montrent que l'effet du stress ne se manifeste que lorsque la charge mnésique est forte (2 informations) mais non lorsque la charge mnésique est faible (une information unique). De plus, l'effet du stress ne se manifeste que pour un délai de rétention long (24 h) mais non pour un délai de rétention court (5 minutes). Par ailleurs, l'effet du stress sur la restitution mnésique semble s'exercer par une modulation de l'interférence. Ces résultats montrent que le stress influence la restitution d'informations complexes (sujettes à l'interférence) et

relativement anciennes alors qu'il est sans effet sur les informations simples ou relativement récentes. Finalement, il semble que le stress module la restitution d'informations labiles ou fragiles (de part leur complexité et l'oubli induit par le passage du temps). En revanche, les informations simples ou récentes, donc plus stables ne semblent pas être affectées par le stress dans notre protocole. En d'autres termes, nos résultats indiquent que deux informations acquises successivement interagissent et qu'il est possible de modifier le « poids » de ces influences réciproques par application d'un stress. Par ailleurs, nos expériences montrent **qu'un stress peut agir spécifiquement sur la phase de rappel**, indépendamment de l'acquisition ou de la consolidation puisque le choc électrique est délivré juste avant l'essai de rétention. Dans les conditions expérimentales où l'effet du stress se manifeste, à savoir lorsque l'animal a acquis deux informations successives et que l'intervalle de rétention est de 24 heures, on constate qu'il y a une inversion de la restitution par rapport à ce qu'il se passe spontanément (c'est à dire en l'absence de stress). En d'autres termes, les animaux stressés restituent mieux la deuxième information que la première qui est au hasard (on observe exactement l'inverse chez les animaux non stressés). De plus les mauvaises performances sur celle ci sont liées à un taux important d'interférences rétroactives. Le stress perturbe la restitution de la première information en augmentant l'interférence rétroactive alors qu'il améliore la restitution de la seconde information en réduisant l'interférence proactive (qui s'exprime fortement chez les animaux non stressés). Ces données indiquent que les animaux non stressés présentent une acquisition et une rétention normale pour la seconde discrimination, simplement, ils ne sont pas capables de la restituer spontanément. Un stress appliqué 5 minutes avant la restitution permet à cette information acquise normalement de s'exprimer au travers des performances. Plusieurs hypothèses peuvent être avancées pour expliquer les

effets du choc. On peut penser que, sans stress, les animaux restituent spontanément et préférentiellement la première information, de façon plutôt automatique. Cette restitution spontanée masque la rétention de la seconde information (ce masquage se traduit par le fort taux d'interférences proactives). Le stress induirait la mise en place d'un processus plus actif (« effortfull ») qui permettrait d'accéder d'avantage à la seconde information conduisant de ce fait à un masquage de la rétention de la première information (ce masquage se traduit par l'accroissement de l'interférence rétroactive). Il est possible aussi que le stress induise « l'effacement » de la première information (cet effacement se traduit par la réduction de l'interférence proactive) permettant ainsi à la seconde de s'exprimer.

Par ailleurs cette inversion de la restitution par application d'un stress (amélioration de la restitution de la seconde information et perturbation de la restitution de la première) ne se produit que dans la procédure avec la variation contextuelle entre les deux discriminations. A l'inverse, dans la procédure sans variation contextuelle, le stress potentialise la restitution de la première information sans agir sur la seconde. Ces données indiquent que même s'ils ne sont pas utilisés dans la condition sans stress, les indices contextuels ont bien été acquis et retenus et que les éléments contextuels sont nécessaires pour observer l'inversion de la restitution consécutive à l'application du stress. De plus, nos données montrent que l'effet du stress ne se manifeste qu'après un délai de rétention de 24 heures alors que pour un délai de rétention de 5 minutes le stress n'a aucun effet, malgré la variation contextuelle. Ces données suggèrent que le traitement des informations contextuelles n'est pas immédiat et que le passage du temps est nécessaire à leur intégration. L'effet du stress est donc **dépendant du contexte** puisqu'il diffère selon que les animaux ont été soumis ou non à une variation contextuelle entre les deux discriminations. Ainsi, dans le

protocole avec la variation contextuelle et en condition normale, les animaux restituent les discriminations en fonction de l'ordre temporel (ils restituent bien la première information acquise et restituent la seconde au hasard). Dans ce cas de figure, l'aspect temporel est prépondérant pour la restitution et les éléments contextuels sont secondaires. Le choc électrique réactiverait les éléments contextuels secondaires, faisant ainsi émerger le souvenir contextuel le plus récent (et le trou renforcé associé à ce contexte), d'où une bonne restitution de la seconde discrimination et des performances au hasard pour la première. Dans ce cas de figure, la réponse n'est plus basée uniquement sur l'ordre temporel mais aussi sur le contexte. La composante temporelle est cependant toujours présente puisque la facilitation de la récence s'accompagne ipso facto de l'inhibition des informations plus anciennes. Dans la procédure sérielle sans changement de contexte, les animaux continuent à répondre en fonction de l'ordre temporel (avec ou sans le stress) puisque le contexte le plus récent et le plus ancien sont identiques. Dans ce cas de figure, le stress réactiverait également les éléments contextuels, facilitant de ce fait de la restitution sur la 1<sup>ère</sup> discrimination.

**Enfin, même si nos résultats ne permettent pas de conclure avec certitude sur la nature psychologique des processus impliqués dans la modulation de la restitution mnésique par le stress, ils nous ont permis de valider un modèle comportemental permettant d'étudier les effets spécifiques d'un stress aigu « anxigène » sur les processus de restitution mnésique chez la souris dans une épreuve de discriminations spatiales sérielles contextuelles. En outre, ce modèle permet d'étudier la composante temporelle (ordre sériel), la composante contextuelle (effet du stress) et la composante spatiale (localisation spatiale des trous renforcés) d'un souvenir.**



## II. ÉTUDE NEUROBIOLOGIQUE

Comme nous l'avons expliqué en introduction de ce chapitre, nous avons associé l'étude comportementale à une étude neurobiologique visant à caractériser les substrats cérébraux mis en jeu dans notre protocole expérimental. Dans la mesure où le test comportemental est relativement nouveau, l'approche immunohistochimique paraît la plus adaptée car elle permet une étude pionnière, globale et intégrée des structures impliquées dans cet apprentissage. Cette première étude pourra servir de base ultérieurement pour une approche plus ciblée (lésions, inactivations, injections intra cérébrales...).

Nous avons donc étudié les modifications de plasticité synaptique neuronale par l'analyse immunohistochimique de l'expression du gène précoce *c-Fos*. L'activation de gènes précoces tels que *c-fos* ou *c-jun* reflète certains événements génomiques qui contrôlent des modifications à long terme du système nerveux. De nombreux stimuli, notamment certains apprentissages ou certains stimuli stressants induisent *c-fos* et la protéine Fos correspondante dans diverses structures cérébrales. On admet que l'expression de la protéine Fos reflète l'activation fonctionnelle de neurones particuliers (Cf. Méthodologie). Nous avons utilisé cet outil afin de tenter d'identifier les structures mises en jeu dans les différentes modalités de l'expérience de la boîte à 4 trous.

## ❖ RAPPEL DES RESULTATS COMPORTEMENTAUX

ACQUISITION	INTERFERENCE	CHARGE MNESIQUE	DELAI DE RETENTION	EFFET DU CHOC sur la restitution mnésique
Une information unique	NON	FAIBLE	5 minutes	NON
Deux informations successives différentes	OUI	FORTE	5 minutes	
Une information unique	NON	FAIBLE	24 heures	NON
Deux informations successives différentes	OUI	FORTE	24 heures	OUI

Nous rappelons ici que l'effet du choc électrique sur la restitution mnésique n'apparaît que pour un intervalle de rétention de 24 heures et dans la situation où la charge mnésique est la plus importante (situation avec interférence). Nous sommes partis de l'hypothèse selon laquelle l'augmentation de la charge mnésique pourrait entraîner des modifications de l'activation cérébrale dans certaines structures, et que ces éventuelles modifications d'activation pourraient être à l'origine de la sensibilité au choc électrique.

❖ **REGIONS CEREBRALES ETUDIEES**

Le comptage des noyaux immunoréactifs a été effectué dans les structures suivantes. Certaines structures, de part leur étendue ou du fait de l'hétérogénéité du marquage, ont été divisées en plusieurs régions.

- **Hippocampe**
  - CA 1 dorsal
  - CA 3 dorsal
  - Gyrus denté (GD) dorsal
  - CA 1 ventral
  - CA 3 ventral
  - GD ventral
- **Amygdale**
  - Noyau basolatéral
  - Noyau central
- **Cortex préfrontal**
- **Cortex cingulaire antérieur**
- **Subiculum**
- **Cortex rhinal**  
(Cortex entorhinal et perirhinal)
- **Thalamus**
  - Noyau antérieur médian
  - Noyau antérieur ventral
  - Noyau médiodorsal
- **Hypothalamus**
  - Corps mamillaire médian
  - Corps mamillaire latéral
  - Noyau paraventriculaire (région parvicellulaire)

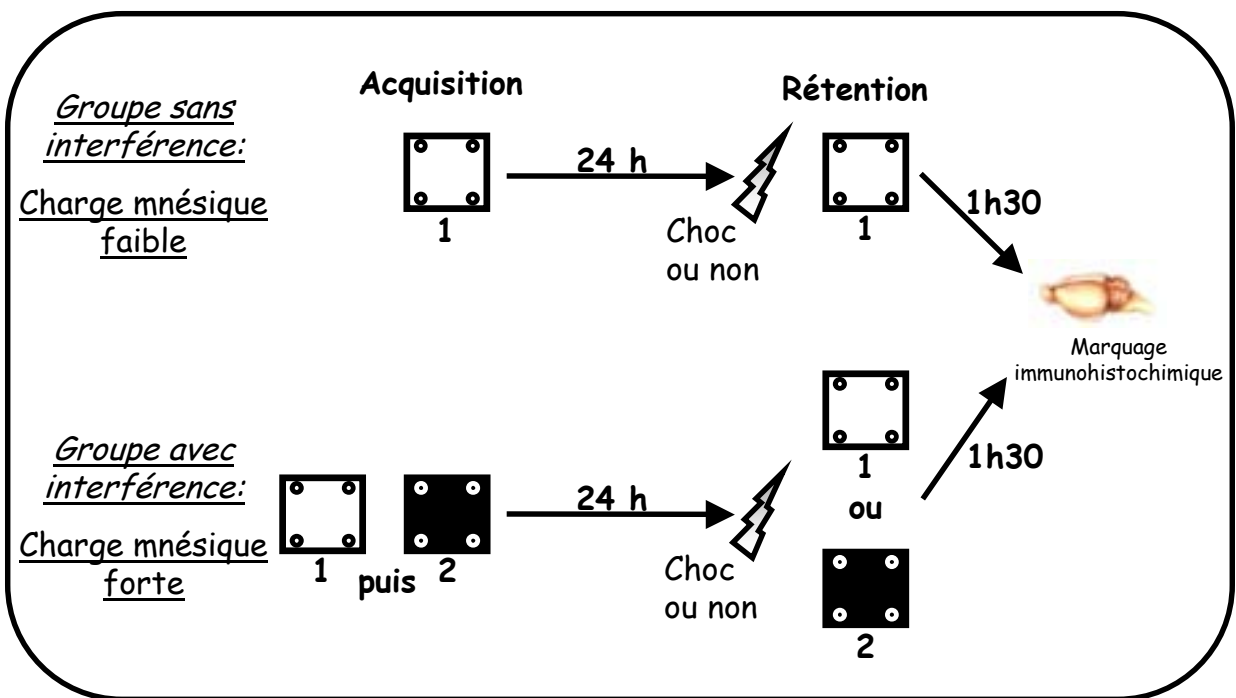


Figure IV.19 : Protocole expérimental (rappel)

## **A. EFFETS DU CHOC EN FONCTION DE LA CHARGE MNESIQUE SUR L'EXPRESSION DE LA PROTEINE FOS**

Nous avons étudié, dans un premier temps, l'expression de la protéine Fos dans les structures cérébrales énumérées ci dessus, en fonction de la charge mnésique (faible ou forte) et en fonction du choc (souris choquées ou non choquées) pour le délai de rétention de 24 heures.

### **1. Protocole expérimental et constitution des groupes (Cf. Figure IV.19)**

#### a. Protocole

Comme indiqué précédemment, les animaux ont été soumis soit à l'acquisition d'une information unique soit à l'acquisition de 2 informations différentes. Après un délai de rétention de 24 heures, les animaux reçoivent ou non un choc électrique puis, 5 minutes après, ils sont soumis à l'essai de rétention (unique dans tous les cas). Les souris sont anesthésiées, perfusées et les cerveaux sont prélevés pour l'étude immunohistochimique (Cf. Chapitre II).

#### b. Constitution des groupes

Charge mnésique faible, non choqués : N = 6

Charge mnésique faible, choqués : N = 5

Charge mnésique forte, non choqués : N = 8

Charge mnésique forte, choqués : N = 8

## **2. Résultats**

Nous avons réalisé une analyse globale ANOVA à 2 facteurs (charge mnésique et choc). Par soucis de clarté, nous présenterons successivement et séparément

# Effet de la charge mnésique sur l'expression de la protéine Fos

□ Charge mnésique faible

▨ Charge mnésique forte

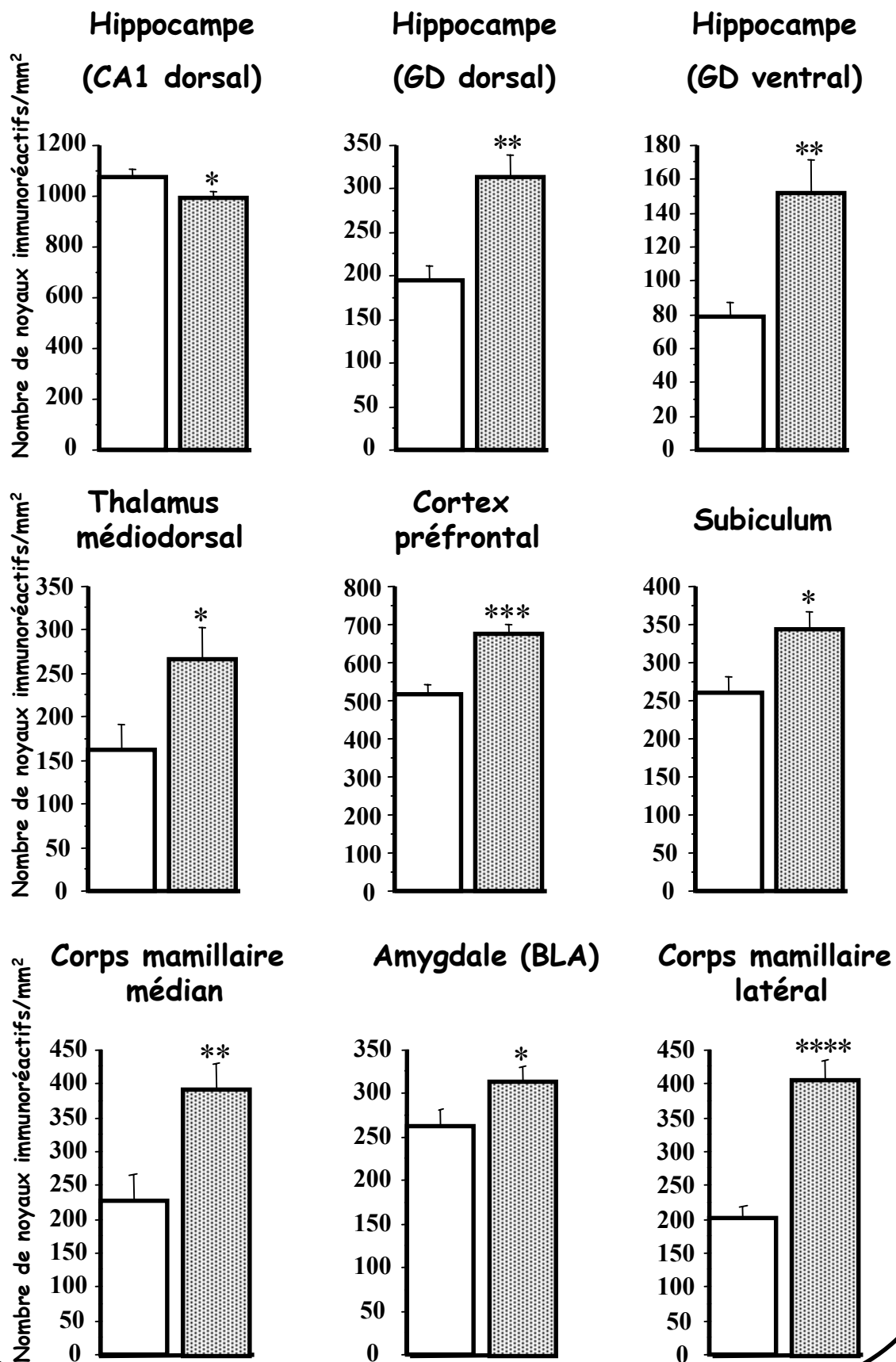


Figure IV.20

les structures cérébrales sensibles à l'effet de la charge mnésique, les structures sensibles à l'effet du choc enfin, les structures pour lesquelles l'interaction est significative.

a. Effets de l'augmentation de la charge mnésique sur l'expression de la protéine Fos (Cf. Figure IV.20)

<b>STRUCTURES</b>	<b>GROUPE</b> (Charge mnésique)	<b>MOYENNE ± SEM</b> Nombre de noyaux immunréactifs/mm <sup>2</sup>	Valeur de F et p
Amygdale (noyau basolatéral)	Faible (N=11)	263 ± 18	F <sub>1,25</sub> = 4.6 p = 0.04
	Forte (N=16)	315 ± 16	
Cortex préfrontal	Faible	518 ± 26	F <sub>1,25</sub> = 17.3 p = 0.0003
	Forte	665 ± 23	
Subiculum	Faible	260 ± 21	F <sub>1,25</sub> = 7.2 p = 0.013
	Forte	344 ± 22	
CA 1 dorsal	Faible	1078 ± 29	F <sub>1,25</sub> = 5.6 p = 0.03
	Forte	993 ± 22	
GD dorsal	Faible	194 ± 16	F <sub>1,25</sub> = 12.1 p = 0.002
	Forte	313 ± 26	
GD ventral	Faible	79 ± 9	F <sub>1,25</sub> = 9.7 p = 0.0045
	Forte	155 ± 19	
Thalamus médiodorsal	Faible	162 ± 29	F <sub>1,25</sub> = 4.5 p = 0.045
	Forte	267 ± 36	
Corps mamillaire latéral	Faible	202 ± 16	F <sub>1,25</sub> = 39.2 p < 0.0001
	Forte	408 ± 25	
Corps mamillaire médian	Faible	228 ± 35	F <sub>1,25</sub> = 9.7 p = 0.005
	Forte	394 ± 37	

Les résultats indiquent que le marquage est globalement plus élevé dans diverses régions cérébrales pour la charge mnésique forte par rapport à la charge mnésique faible. La seule exception parmi les structures étudiées est le CA 1 dorsal de l'hippocampe où, au contraire, on observe un marquage réduit pour la charge mnésique forte par rapport à la charge mnésique faible.

## Effet du choc électrique sur l'expression de la protéine Fos

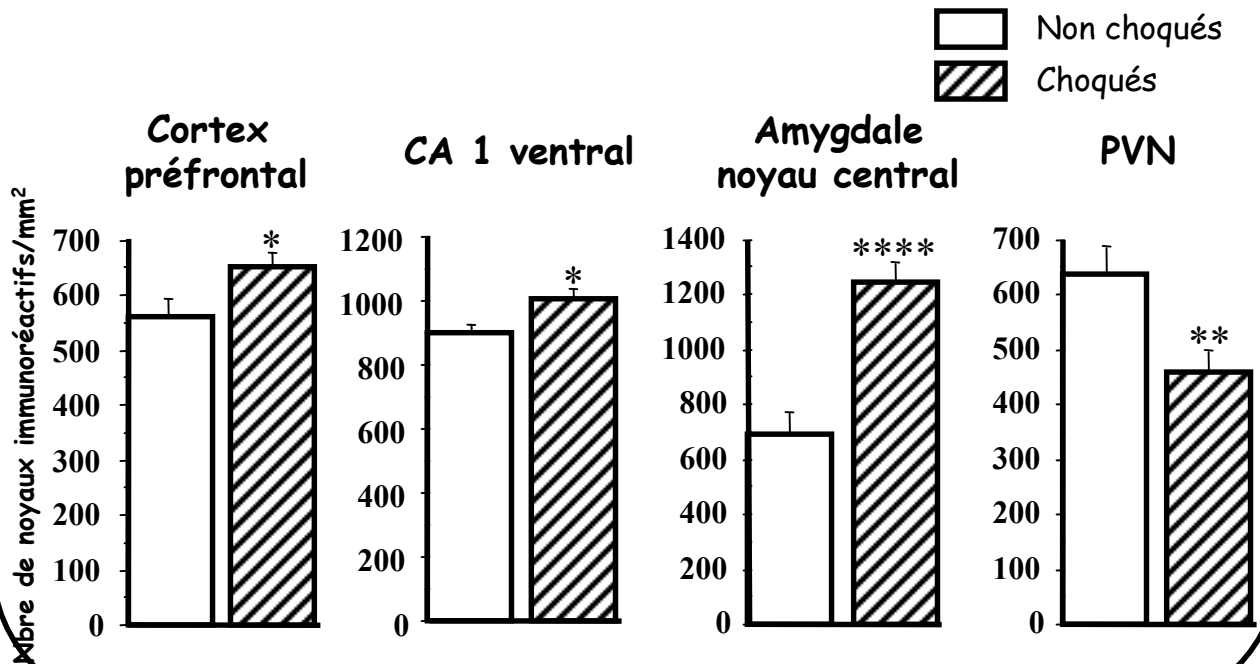


Figure IV.21

## Effet du choc électrique en fonction de la charge mnésique sur l'expression de la protéine Fos

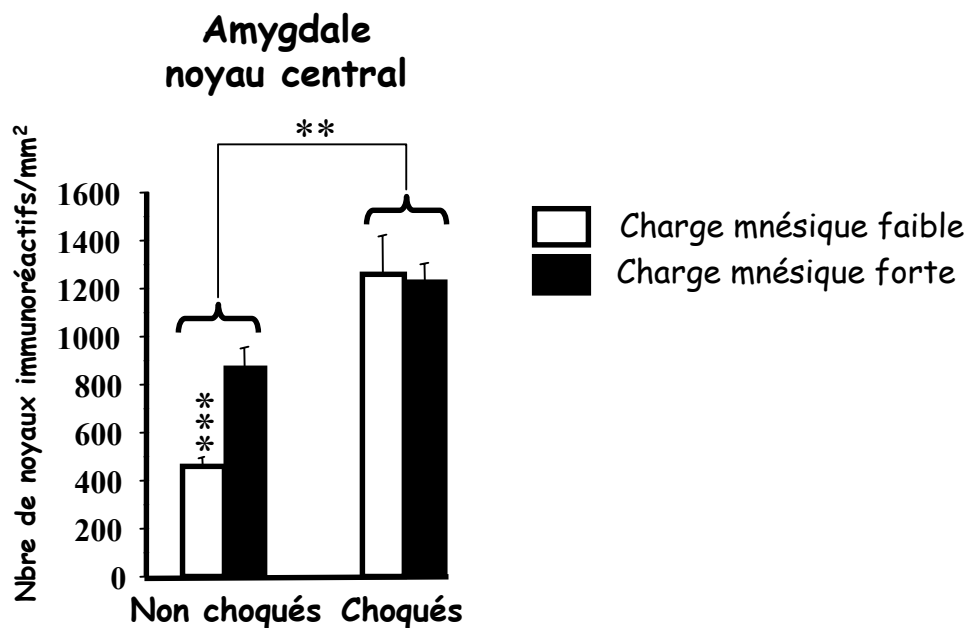


Figure IV.22



b. Effet du choc électrique sur l'expression de la protéine Fos (Cf. Figure IV.21)

<b>STRUCTURES</b>	<b>GROUPE</b>	<b>MOYENNE ± SEM</b> Nombre de noyaux immunréactifs/mm <sup>2</sup>	Valeur de F et p
Cortex préfrontal	Non choqués (N=14)	563 ± 31	F <sub>1,25</sub> = 4.4 p = 0.045
	Choqués (N=13)	651 ± 28	
CA 1 ventral	Non choqués	899 ± 27	F <sub>1,25</sub> = 5.8 p = 0.02
	Choqués	1004 ± 35	
Amygdale Noyau central	Non choqués	696 ± 72	F <sub>1,25</sub> = 30.5 p < 0.0001
	Choqués	1244 ± 68	
NPV de l'hypothalamus	Non choqués	639 ± 45	F <sub>1,25</sub> = 9.4 p = 0.005
	Choqués	459 ± 38	

Les résultats indiquent que le marquage est plus important dans le cortex préfrontal, le CA 1 ventral de l'hippocampe et le noyau central de l'amygdale chez les animaux choqués par rapport aux animaux non choqués. En revanche, le marquage est plus réduit dans le noyau paraventriculaire de l'hypothalamus chez les animaux choqués par rapport aux animaux non choqués.

c. Effet du choc électrique en fonction de la charge mnésique (Interaction Charge mnésique X Choc) (Cf. Figure IV.22)

<b>STRUCTURES</b>	<b>GROUPE</b>	<b>MOYENNE ± SEM</b> Nombre de noyaux immunréactifs/mm <sup>2</sup>	Valeurs F et p
Amygdale Noyau central	charge mnésique faible ; non choqués (N=6)	459 ± 33	F <sub>1,23</sub> = 6.6 p = 0.015
	charge mnésique forte ; non choqués (N=8)	873 ± 76	
	charge mnésique faible ; choqués (N=5)	1259 ± 155	
	charge mnésique forte ; choqués (N=8)	1235 ± 66	

Dans le noyau central de l'amygdale, l'interaction charge mnésique X choc est significative. Plus précisément, en situation normale (c'est à dire sans le choc), les animaux confrontés à une charge mnésique forte présentent un marquage significativement plus important que les animaux confrontés à une charge mnésique faible ( $F(1,12) = 19.9$  ;  $p = 0.0008$ ). En revanche, lorsqu'ils ont reçu le choc électrique, ces deux groupes présentent un marquage similaire dans le noyau central de l'amygdale ( $F < 1.0$ ). De plus, que la charge mnésique soit faible ou forte, les animaux choqués présentent toujours un marquage plus important que les animaux non choqués ( $F(1,9) = 30.4$  ;  $p = 0.0004$  et  $F(1,14) = 13.1$  ;  $p = 0.003$  respectivement).

Parmi les animaux confrontés à une charge mnésique forte, on distingue 2 populations : les animaux soumis à l'interférence proactive et les animaux soumis à l'interférence rétroactive. Nous avons donc étudié plus précisément l'expression de la protéine Fos en fonction du type d'interférence.

## **B. EFFETS DU CHOC EN FONCTION DU TYPE D'INTERFERENCE SUR L'EXPRESSION DE LA PROTEINE FOS**

Dans un second temps, nous avons étudié plus précisément l'expression de la protéine Fos en fonction du type d'interférence (proactive ou rétroactive) et en fonction du choc (choqués ou non choqués) toujours pour le délai de rétention de 24 heures.

### **1. Protocole expérimental et constitution des groupes**

#### a. Protocole

Cf. chapitre II

#### b. Constitution des groupes

Animaux non choqués, interférence rétroactive : N = 4

## Effet du type d'interférence sur l'expression de la protéine Fos

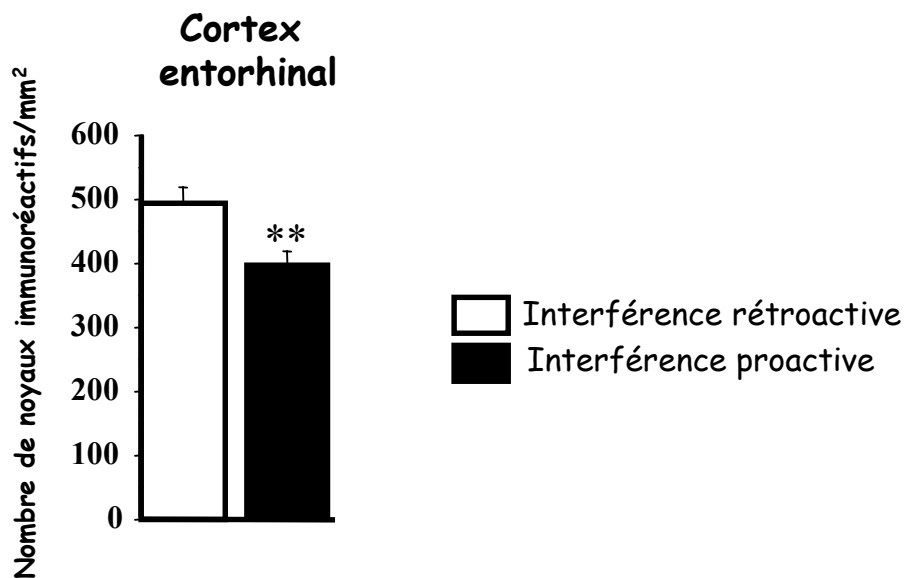


Figure IV.23

Animaux non choqués, interférence proactive : N = 4

Animaux choqués, interférence rétroactive : N = 4

Animaux non choqués, interférence proactive : N = 4

## 2. Résultats

Nous avons réalisé une analyse globale ANOVA à 2 facteurs (type d'interférence et choc). Par soucis de clarté, nous présenterons successivement et séparément les structures cérébrales sensibles au type d'interférence, les structures sensibles à l'effet du choc et enfin les structures pour lesquelles l'interaction entre les 2 facteurs est significative.

a. Effet du type d'interférence sur l'expression de la protéine Fos (Cf. Figure IV.23)

<b>STRUCTURES</b>	<b>GROUPE</b> (type d'interférence)	<b>MOYENNE ± SEM</b> Nombre de noyaux immunoréactifs/mm <sup>2</sup>	Valeur de F et p
Cortex entorhinal	Rétroactive (N=8)	493 ± 24	F <sub>1,14</sub> = 8.9 p = 0.01
	Proactive (N=8)	400 ± 19	

On observe un marquage plus important dans le cortex entorhinal chez les animaux soumis à l'interférence rétroactive par rapport aux animaux soumis à l'interférence proactive.

## Effet du choc électrique sur l'expression de la protéine Fos

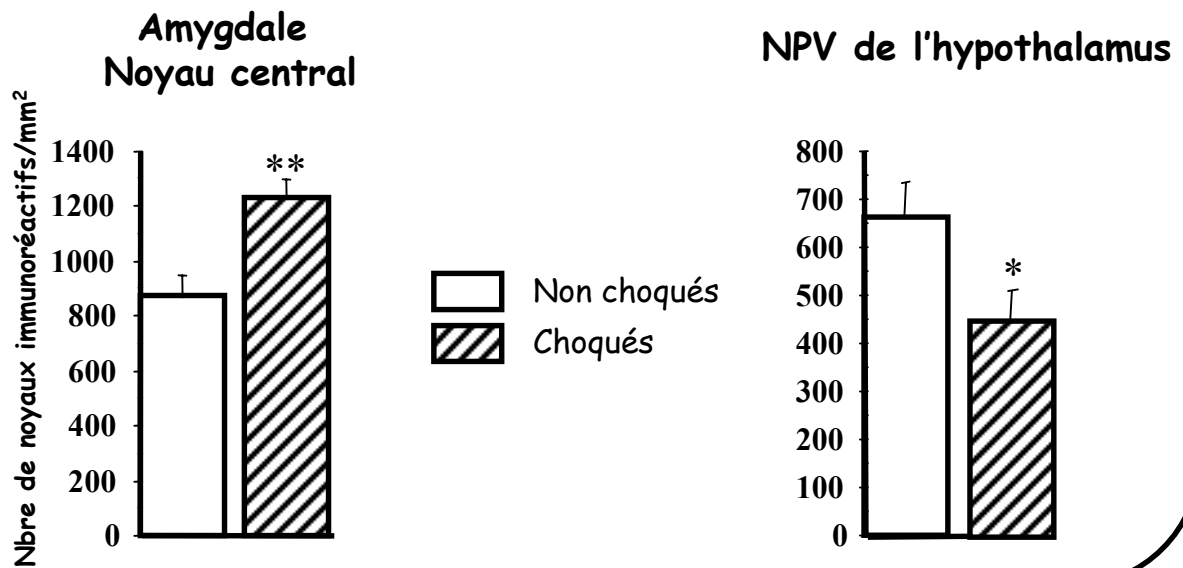


Figure IV.24

## Effet du choc électrique en fonction du type d'interférence sur l'expression de la protéine Fos

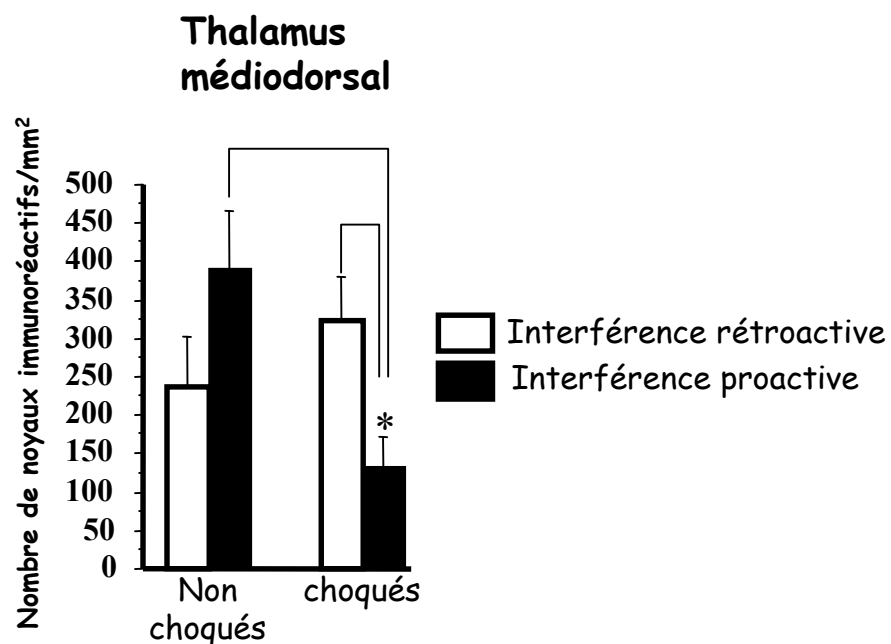


Figure IV.27

b. Effet du choc électrique sur l'expression de la protéine Fos (Cf. Figure IV.24)

STRUCTURES	GROUPE	MOYENNE ± SEM Nombre de noyaux immunoréactifs/mm <sup>2</sup>	Valeurs F et p
Amygdale Noyau central	Non choqués (N=8)	873 ± 76	F <sub>1,14</sub> = 13.1 p = 0.003
	Choqués (N=8)	1235 ± 66	
NPV de l'hypothalamus (neurones parvicellulaires)	Non choqués	664 ± 71	F <sub>1,14</sub> = 5.2 p = 0.04
	Choqués	449 ± 61	

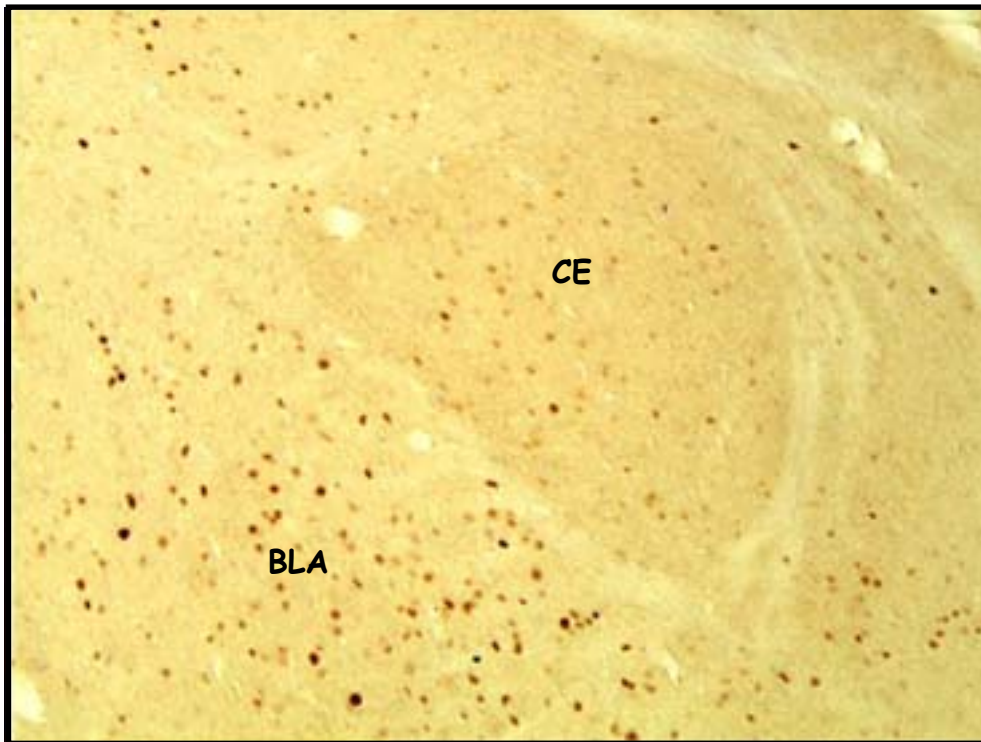
On observe un marquage plus important dans le noyau central de l'amygdale chez les animaux choqués par rapport aux animaux non choqués (Cf. Photographie IV.25). Au contraire, le marquage est réduit dans le noyau paraventriculaire de l'hypothalamus chez les animaux choqués par rapport aux animaux non choqués (Cf. Photographie IV.26).

c. Effets du choc en fonction du type d'interférence sur le marquage immunohistochimique (Cf. Figure IV.27)

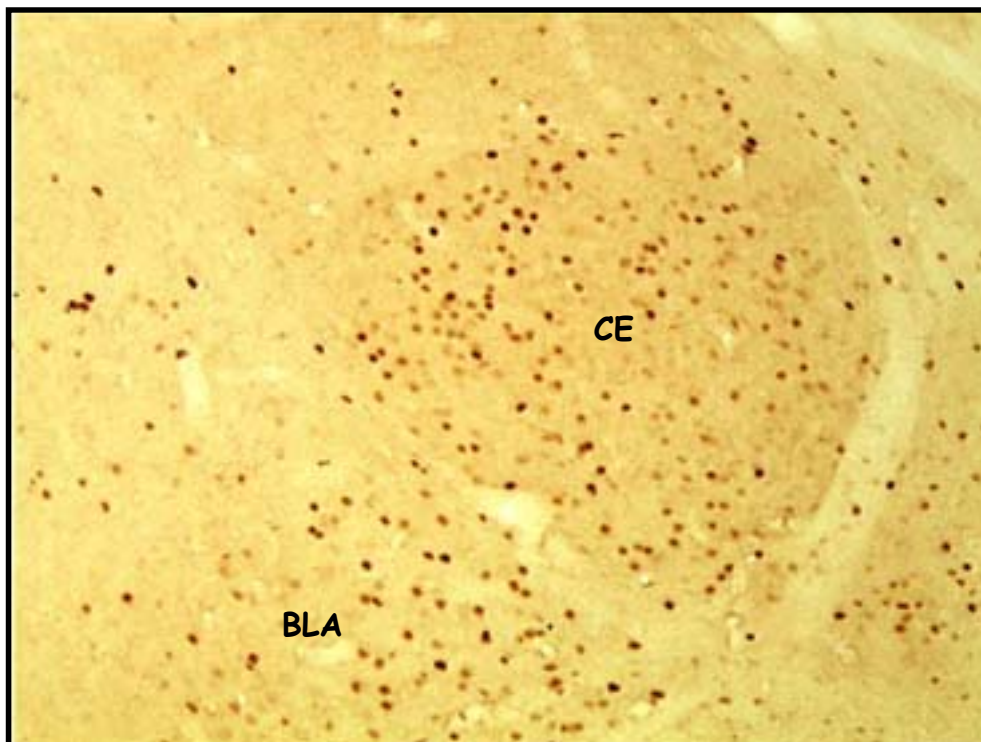
STRUCTURES	GROUPE	MOYENNE ± SEM Nombre de noyaux immunoréactifs/mm <sup>2</sup>	Valeurs F et p
Thalamus médiadorsal	Non choqués ; rétroactive (N=4)	236 ± 67	F <sub>1,12</sub> = 7.7 p = 0.015
	Non choqués ; proactive (N=4)	390 ± 76	
	Choqués ; rétroactive (N=4)	322 ± 59	
	Choqués ; proactive (N=4)	133 ± 39	

Dans le thalamus médiadorsal, l'interaction type d'interférence X choc est significative. Plus précisément, en situation d'interférence proactive, les animaux choqués présentent un marquage significativement réduit par rapport aux

## SOURIS NON CHOQUEE

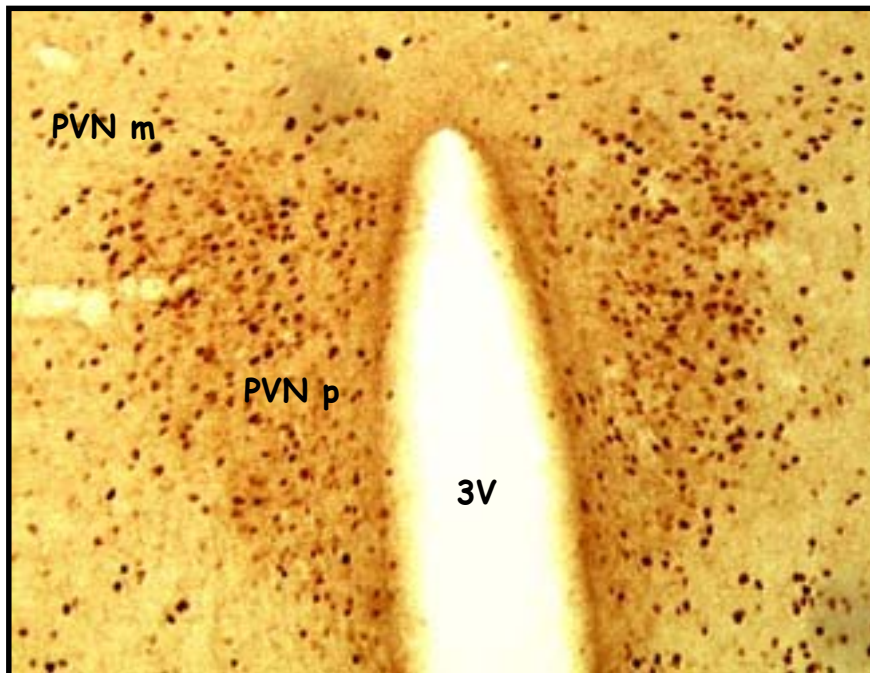


## SOURIS CHOQUEE

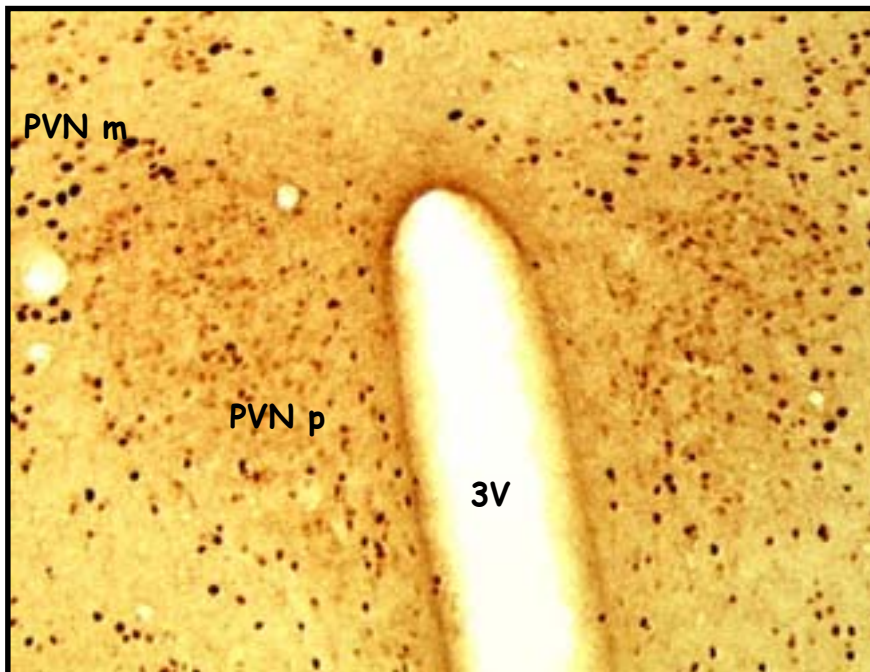


**BLA:** noyau basolatéral de l'amygdale; **CE:** noyau central de l'amygdale

## SOURIS NON CHOQUEE



## SOURIS CHOQUEE



**3V:** Troisième ventricule; **PVN p:** noyau paraventriculaire de l'hypothalamus région parvicellulaire; **PVN m:** noyau paraventriculaire de l'hypothalamus région magnocellulaire



## Etude de corrélation

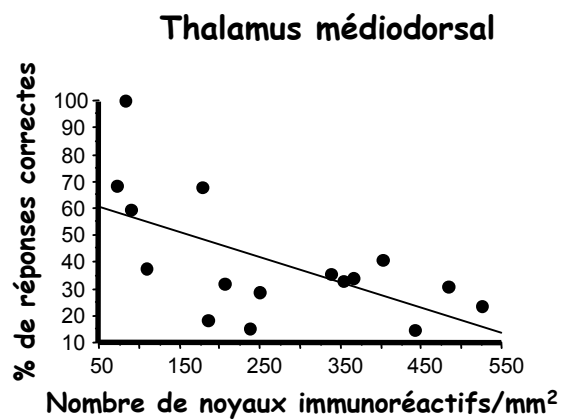


Figure IV.28: Performances en fonction du marquage dans le thalamus médiodorsal

animaux non choqués ( $F(1,6) = 9,0$  ;  $p = 0.025$ ). En revanche, en situation d'interférence rétroactive, les animaux choqués présentent un marquage similaire ( $F < 1.0$ ) voire légèrement plus élevé que les animaux non choqués. De plus, dans la condition choquée, le marquage est significativement réduit chez les animaux soumis à l'interférence proactive par rapport aux animaux soumis à l'interférence rétroactive ( $F(1,6) = 7.1$  ;  $p = 0.035$ ), alors qu'il n'y a aucune différence significative, voire une tendance inverse dans la condition non choquée ( $F(1,6) = 2.3$  ;  $p = 0.15$ ). Par ailleurs, une analyse de corrélation entre l'intensité du marquage et les paramètres comportementaux révèle que les performances (pourcentage de réponses correctes) des animaux sont négativement corrélées avec l'activité du thalamus médiodorsal ( $r = -0.61$  ;  $p = 0.01$  ; Cf. Figure IV.28) et le pourcentage de réponses fausses est positivement corrélé à l'activité de ce même noyau ( $r = 0.61$  ;  $p = 0.01$ ).

L'étude immunohistochimique nous a permis de déterminer un certain nombre de structures impliquées dans les différentes modalités de notre protocole comportemental. Les résultats de cette étude seront discutés à la fin de ce chapitre.

### **III. ETUDE ENDOCRINIENNE**

Comme nous l'avons expliqué en introduction de ce chapitre, nous avons associé l'étude comportementale à une étude endocrinienne visant à caractériser la réponse au stress sur le plan physiologique (en collaboration avec A.SARRIEAU, Prof. Univ. Bordeaux I). Ainsi, nous avons réalisé le dosage de la concentration de corticostérone plasmatique, hormone dont la synthèse et la libération est induite par le stress, afin d'évaluer l'état d'activation de l'axe corticotrope (axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien) dans nos conditions expérimentales.

Pour évaluer l'état d'activation de l'axe corticotrope, nous avons choisi de doser la corticostérone plasmatique. Plusieurs raisons ont suscité ce choix : en premier lieu, on sait que l'application d'un stimulus stressant déclenche une cascade de processus biologiques conduisant à la synthèse et à la libération d'une grande variété de molécules (CRH, vasopressine, ocytocine, ACTH, glucocorticoïdes...Cf. Introduction générale). Toutes ces molécules semblent moduler la réponse comportementale, mais la corticostérone est le produit final de cette cascade et le taux plasmatique de corticostérone est un bon indicateur de l'activation globale de l'axe corticotrope. De plus, la sécrétion de corticostérone en réponse à un stressor est une réponse non spécifique, c'est à dire qu'elle est observée quel que soit le type de stressor alors que la sécrétion d'autres hormones comme la vasopressine ou l'ocytocine varie en fonction du type de stressor. Enfin, on trouve des récepteurs à la corticostérone dans diverses régions cérébrales impliquées dans les processus mnésiques, comme notamment l'amygdale ou l'hippocampe. La présence et la mise en jeu de ces récepteurs centraux aux glucocorticoïdes pourraient en partie rendre compte de la modulation des processus de restitution mnésique par les processus émotionnels. De nombreux travaux ont en effet montré que le stress et les glucocorticoïdes influencent la mémoire chez l'homme comme chez l'animal (Shors et al, 1992 ; Roozendaal et Mc Gaugh, 1996 ; Sandi et al, 1997; Lupien et Mc Ewen, 1997). La plupart des études antérieures se sont essentiellement focalisées sur l'effet des glucocorticoïdes sur l'acquisition, la consolidation et le stockage à long terme de nouvelles informations (Sandi et al, 1995 ; Venero et Sandi, 1997). En revanche, l'effet du stress et des glucocorticoïdes sur la phase de restitution des informations est relativement peu étudié ( De Quervain et al, 1998, 2000).

Nous avons donc évalué l'activation de l'axe corticotrope induite par le choc

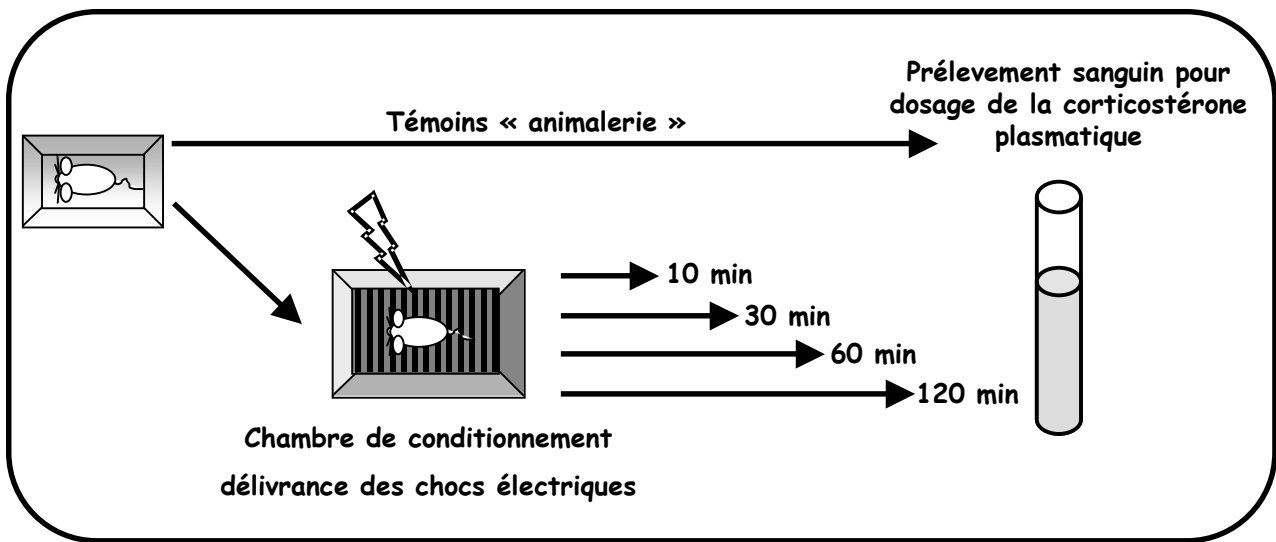


Figure IV.29 : Procédure expérimentale d'évaluation du décours temporel de la sécrétion de corticostérone induite par le choc électrique

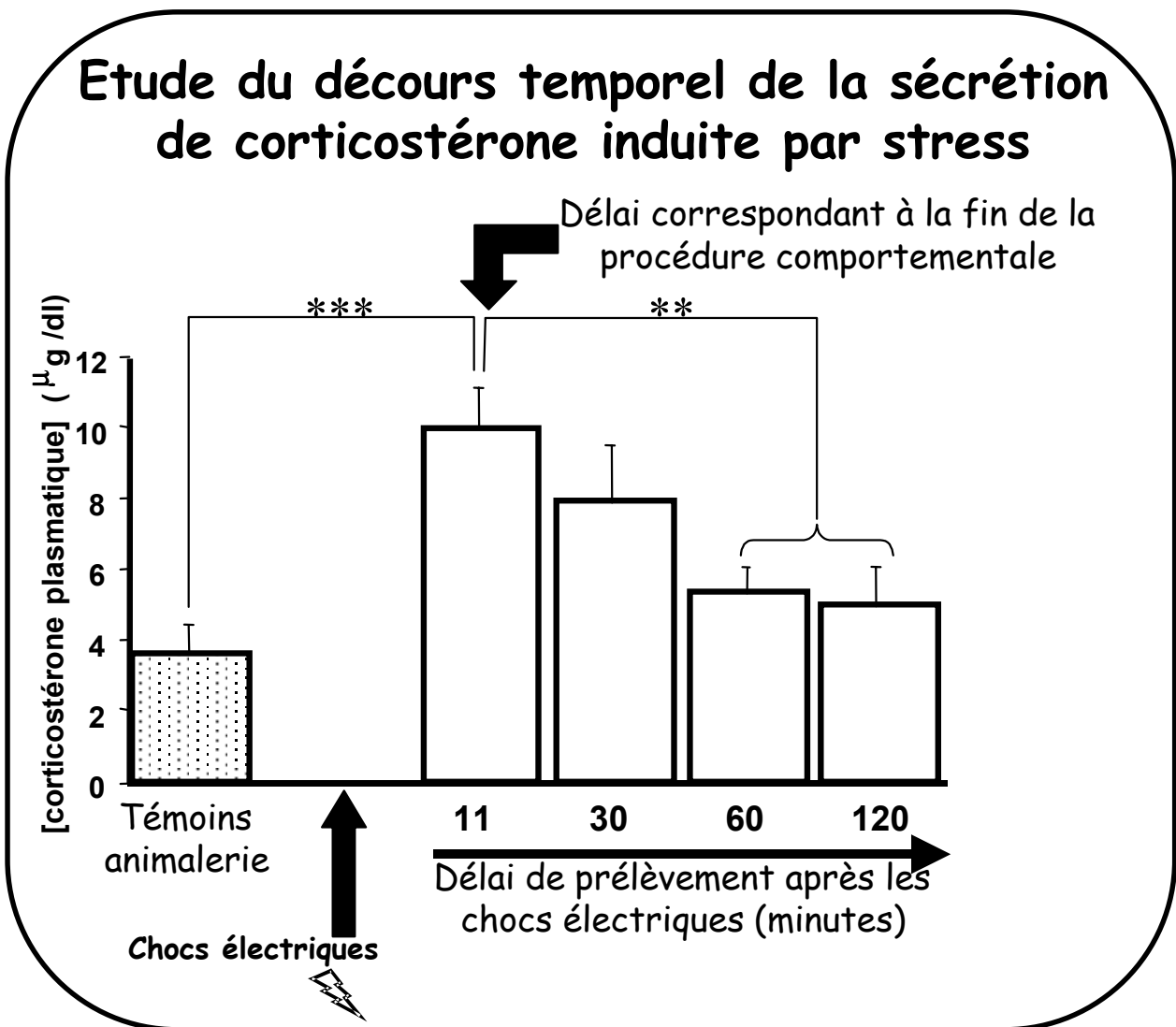


Figure IV.30 : Evaluation du décours temporel de la sécrétion de corticostérone induite par le choc électrique

électrique dans notre protocole expérimental.

## **A. ETUDE DU DECOURS TEMPOREL DE LA SECRETION DE CORTICOSTERONE INDUITE PAR LE CHOC ELECTRIQUE.**

Cette expérience avait plusieurs objectifs :

- en premier lieu, déterminer si le choc électrique que nous utilisons comme stresser déclenche effectivement une activation de l'axe corticotrope
- en second lieu, étudier le décours temporel de cette éventuelle activation

### **1. Procédure expérimentale** (Cf. Figure IV.29)

Les animaux sont placés pendant 1 minute dans la chambre de conditionnement décrite précédemment (Cf. Etude comportementale) où ils reçoivent 3 chocs successifs (0.9mA ; 2 secondes) au bout de 10 secondes, 30 secondes et 50 secondes, puis ils sont replacés dans leur cage habituelle à l'animalerie. Les animaux sont ensuite décapités et leur sang est prélevé pour le dosage immunoradioactif à différents délais après le choc électrique :

- 10 minutes ; N = 10
- 30 minutes ; N = 7
- 60 minutes ; N = 7
- 120 minutes ; N = 7
- Les animaux témoins « animalerie » (N = 6) constituent un groupe de référence permettant d'évaluer le niveau basal de corticostérone plasmatique en l'absence de stimulus stresser.

### **2. Résultats** (Cf. Figure IV.30)

L'analyse factorielle indique un effet significatif du délai de prélèvement

( $F(4,32) = 4.85$  ;  $p = 0.004$ ). Plus précisément, on observe, par rapport aux animaux témoins « animalerie » ( $3.6 \pm 1.2 \mu\text{g/dl}$ ), une augmentation significative de la concentration de corticostérone plasmatique 10 minutes ( $10 \pm 1.2 \mu\text{g/dl}$  ;  $p = 0.0007$ ) et 30 minutes ( $7.9 \pm 1.6 \mu\text{g/dl}$  ;  $p = 0.025$ ) après le choc électrique. En revanche, la concentration de corticostérone plasmatique ne diffère plus du niveau basal 60 minutes ( $5.2 \pm 0.7 \mu\text{g/dl}$  ;  $p = 0.36$ ) et 120 minutes ( $4.9 \pm 1.1 \mu\text{g/dl}$  ;  $p = 0.45$ ) après le choc électrique. De plus, la concentration de corticostérone plasmatique est significativement plus élevée 10 minutes après le choc que 60 minutes ( $p = 0.007$ ) et 120 minutes ( $p = 0.004$ ) après. En revanche, il n'y a aucune différence significative entre les concentrations de corticostérone 30 minutes après le choc et 60 minutes ( $p = 0.15$ ) ou 120 ( $p = 0.1$ ) minutes après.

**En résumé, les résultats indiquent que la concentration de corticostérone atteint un pic 10 minutes après le choc électrique, puis diminue progressivement pour revenir au niveau basal entre 60 minutes et 120 minutes après le choc électrique. Le choc électrique induit donc une activation de l'axe corticotrope (après 10 minutes) synchronisée avec la réalisation de l'essai de rétention qui a lieu entre 5 et 11 minutes après la délivrance du choc électrique (l'essai de rétention a lieu 5 minutes après le choc électrique et dure 6 minutes). Ces données suggèrent que la cinétique de sécrétion de corticostérone suite à l'application du choc électrique est cohérente avec l'hypothèse selon laquelle les effets du stress sur les processus de restitution décrits précédemment, pourraient s'exercer par l'intermédiaire d'une modulation des mécanismes centraux par la corticostérone circulante.**

Nous venons de voir que le choc électrique provoque une activation de l'axe

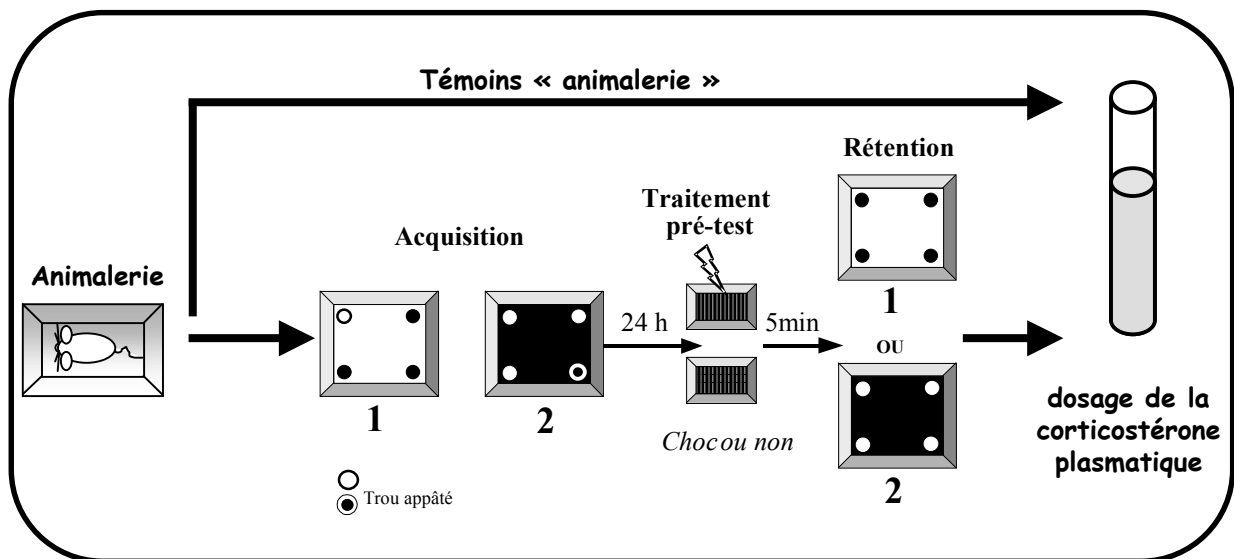


Figure IV.31 : Procédure expérimentale de dosage de la corticostérone plasmatique lors de l'épreuve de discriminations contextuelles sérielles

corticotrope dont les caractéristiques temporelles sont compatibles avec nos hypothèses. Cependant, cette étude de la cinétique de sécrétion de corticostérone induite par le choc électrique a été effectuée chez des animaux choqués, ne réalisant pas l'essai de rétention. Or, l'exposition au contexte non familier de la chambre de conditionnement chez les animaux non choqués ainsi que la réalisation de l'épreuve comportementale (pour les animaux choqués et non choqués) pourraient éventuellement modifier l'activation ou la cinétique d'activation de l'axe corticotrope. Nous avons donc réalisé le dosage de la corticostérone plasmatique chez des animaux choqués et non choqués réalisant l'intégralité de l'épreuve comportementale de deux discriminations spatiales sérielles contextuelles au délai de rétention de 24 heures.

## **B. ETUDE DE L'ETAT D'ACTIVATION DE L'AXE CORTICOTROPE DANS L'ÉPREUVE COMPORTEMENTALE DE DISCRIMINATIONS SPATIALES CONTEXTUELLES SÉRIELLES**

L'objectif de cette expérience était d'évaluer l'état d'activation de l'axe corticotrope, par dosage de la corticostérone plasmatique, chez des animaux réalisant l'épreuve comportementale de discriminations spatiales contextuelles sérielles au délai de rétention de 24 heures.

### **1. Procédure expérimentale (Cf. Figure IV.31)**

Le déroulement de l'épreuve comportementale est identique à celui décrit précédemment : Les animaux apprennent les 2 discriminations successivement puis, 24 heures après, ils sont soumis au traitement pré-test durant lequel ils reçoivent ou non 3 chocs électriques successifs, dans les conditions décrites antérieurement. Enfin, 5 minutes après le traitement pré-test, ils sont placés dans la planche à trous pour un essai de rétention portant soit sur la 1<sup>ère</sup> discrimination acquise, soit sur la 2<sup>ème</sup>.



## Dosage de la corticostérone plasmatique

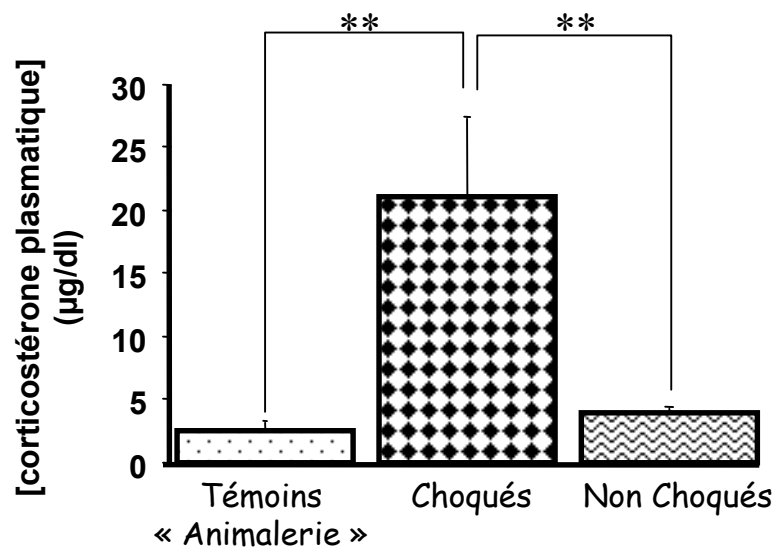


Figure IV.32 : Etude des concentrations de corticostérone plasmatique chez les animaux réalisant l'épreuve de DSCS : effet du choc électrique

A l'issue de l'essai de rétention, les animaux sont décapités et le sang est prélevé pour le dosage de la corticostérone plasmatique.

Les animaux ont été répartis en 3 groupes :

- Souris choquées ; N = 6 (3 choquées, discrimination 1 et 3 choquées, discrimination 2) : **C**
- Souris non choquées ; N = 6 (3 non choquées, discrimination 1 et 3 non choquées, discrimination 2) : **NC**
- Souris témoins « animalerie » ; N = 5 : ces animaux ne sont pas soumis à l'épreuve comportementale et constituent un groupe de référence permettant d'évaluer le niveau basal de corticostérone plasmatique.

## 2. Résultats (Cf. Figure IV.32)

Dans la mesure où il n'y a aucune différence significative de la concentration de corticostérone plasmatique entre les animaux effectuant la rétention sur la 1<sup>ère</sup> ou sur la 2<sup>ème</sup> discrimination ( $F < 1.0$ ), ils ont été regroupés pour l'analyse statistique à l'intérieur de leur groupe respectif (C ou NC).

L'analyse globale indique qu'il existe un effet significatif de la condition ( $F(2,14) = 7.2$  ;  $p = 0.007$ ). Plus précisément, les souris choquées présentent une concentration de corticostérone plasmatique significativement plus élevée ( $21.14 \pm 6.3 \mu\text{g/dl}$ ) que les souris non choquées ( $4.02 \pm 0.4 \mu\text{g/dl}$  ;  $p = 0.0064$ ) et que les souris témoins « animalerie » ( $2.56 \pm 0.7 \mu\text{g/dl}$  ;  $p = 0.0051$ ). Les animaux non choqués, quant à eux, ne diffèrent pas des témoins « animalerie » ( $p = 0.7$ ).

**En résumé, les résultats montrent que le choc électrique délivré en phase pré-test, 5 minutes avant l'essai de rétention, entraîne une activation significative de l'axe corticotrope. Cette activation est bien spécifique du choc électrique puisque les animaux non choqués, soumis aux mêmes conditions expérimentales à l'exception de l'application du choc électrique, ne**

**présentent pas cette activation et ont un niveau de corticostérone plasmatique comparable aux témoins « animalerie ».**

Enfin, l'étude endocrinienne indique que le choc électrique délivré en phase pré-test, 5 minutes avant l'essai de rétention, entraîne une activation significative de l'axe corticotrope concomitante des effets du stress sur les processus de restitution mnésique. Nous formulons l'hypothèse que l'augmentation de la concentration de corticostérone plasmatique chez les animaux choqués est en partie responsable des effets comportementaux observés (à savoir une perturbation de la restitution de la première discrimination accompagnée d'une amélioration de la restitution de la deuxième discrimination). Les effets du stress sur les processus de restitution mnésiques pourraient en effet s'exercer par l'intermédiaire d'une modulation des mécanismes centraux par la corticostérone circulante. A ce stade de notre travail, nous n'avons pas établi de lien causal entre l'augmentation de la sécrétion de corticostérone et les modifications observées sur la restitution mnésique. L'étude des effets comportementaux de l'inhibition de la synthèse de corticostérone, visant à établir ce lien de causalité sera développée dans le chapitre V.

## **IV. DISCUSSION**

L'objectif de cette étude était de mettre au point un modèle comportemental permettant d'étudier l'effet du stress sur la restitution mnésique. Nous avons ainsi mis en évidence que l'application d'un choc électrique pourvu d'un effet anxiogène, 5 minutes avant l'essai de rétention inverse la restitution de l'ordre sériel, que cet effet dépend du contexte et semble s'exercer par une modulation de l'interférence. L'étude immunohistochimique nous a permis de mettre en évidence un certain nombre de structures cérébrales impliquées dans la tâche

mnésique et dans les effets du stress sur la restitution. Finalement, l'étude endocrinienne indique que l'application du choc électrique induit une activation de l'axe corticotrope synchronisée avec l'essai de rétention.

## **CERVEAU ET CHARGE MNESIQUE**

L'étude immunohistochimique indique que l'augmentation de la charge mnésique (une information unique versus 2 informations successives) s'accompagne d'une augmentation de l'activité Fos dans diverses structures cérébrales impliquées dans les processus mnésiques : la région hippocampique (sauf le CA1 dorsal), l'amygdale, le cortex préfrontal, le thalamus médiodorsal et les corps mamillaires.

### **Région hippocampique**

L'hippocampe et les cortex associés étant impliqués dans les processus mnésiques, il semble logique que l'augmentation de la charge mnésique, c'est à dire l'apparition d'informations interférentes mobilise davantage l'activité de cette région. Par ailleurs, la tâche mnésique requiert l'utilisation d'informations spatiales et l'implication de la région hippocampique dans le traitement de l'espace a été largement démontrée par des études lésionnelles ou électrophysiologiques (O'Keefe et Nadel, 1978 ; Morris et al, 1982). Selon certains auteurs, (Squire et Zola-Morgan, 1991 ; Eichenbaum et al, 1992), l'hippocampe et les cortex associés forment un système, crucial pour l'apprentissage de nouvelles informations sur les faits et les événements, dont le rôle serait de relier entre elles les différentes composantes de l'information mémorisée. Les données comportementales nous ont permis de préciser que l'apprentissage et la restitution des informations dans l'épreuve de DCSC, reposent sur des relations étroites et des influences réciproques entre les

informations spatiales, contextuelles et temporelles. L'activation de la formation hippocampique pourrait refléter cette mise en relation des divers éléments constituant le souvenir. La baisse d'intensité du marquage dans le CA1 dorsal est assez paradoxale dans la mesure où la voie d'entrée dans l'hippocampe (le GD) comme la voie de sortie (le Subiculum) présentent toutes deux une augmentation de l'intensité du marquage et que les connections entre ces différentes structures sont glutamatergiques donc excitatrices. Nous pouvons expliquer ce paradoxe en terme méthodologique : en effet, le CA1 dorsal de l'hippocampe est une région où le marquage est particulièrement intense par rapport aux autres structures, les noyaux immunoréactifs sont très proches les uns des autres et souvent même ils se superposent. De ce fait, la méthode de comptage automatique que nous utilisons atteint ses limites de résolution et n'est plus assez précise pour des zones très fortement marquées et la baisse observée dans cette région serait artéfactuelle. Donc globalement, l'augmentation de la charge mnésique s'accompagne d'une élévation de l'intensité du marquage dans la région hippocampique.

### **Corps mamillaires**

La majorité des afférences des corps mamillaires médians et latéraux proviennent de la région hippocampique et plus particulièrement du complexe subiculaire (Allen et Hopkins, 1989 ; Swanson et Cowan, 1975). Cette connexion anatomique permet de comprendre l'augmentation de l'intensité du marquage dans les noyaux mamillaires. Par ailleurs, les corps mamillaires sont impliqués dans les processus mnésiques, notamment dans la restitution du souvenir aussi bien chez l'homme que chez la souris (Lhermitte et Signoret, 1972; Béracochéa et al, 1989).

### Cortex préfrontal

De façon générale, le cortex préfrontal (CPF) ou cortex associatif serait impliqué dans la mise en place de comportements adaptatifs, les processus affectifs et motivationnels ainsi que dans le contrôle et l'inhibition des comportements (Fuster, 1980). Le CPF participerait également aux processus attentionnels, aux processus mnésiques et plus particulièrement à l'organisation temporelle des informations (Butters et al, 1971 ; Fuster, 1980 ; Kolb, 1990), la planification et l'exécution de l'action. L'augmentation de la charge mnésique par addition d'une seconde information ajoute une dimension sérielle à l'épreuve (nous avons vu que les éléments contextuels ne semblent pas prépondérants dans l'expression de l'ordre sériel, Cf. discriminations sérielles sans variation contextuelle). En effet, d'un point de vue comportemental, nous avons vu que dans des conditions sans stress, les animaux restituent préférentiellement l'information acquise en premier au détriment de l'information acquise en second, ils sont donc capables de restituer l'ordre sériel des informations acquises. L'augmentation de l'intensité du marquage dans le cortex préfrontal lorsqu'on ajoute une deuxième information pourrait refléter la prise en compte de la dimension temporelle et de l'ordre sériel. Mais cette augmentation pourrait également refléter la sollicitation plus importante des ressources attentionnelles dans le cas où la charge mnésique est forte (Delatour et Gisquet-Verrier, 2000).

### **CERVEAU ET STRESS**

L'étude immunohistochimique indique que le choc électrique s'accompagne d'une augmentation de l'intensité du marquage dans le cortex préfrontal, le CA1 ventral de l'hippocampe et le noyau central de l'amygdale et d'une réduction de

l'intensité du marquage dans le noyau paraventriculaire de l'hypothalamus (NPV).

### Cortex préfrontal

Nous avons vu précédemment que le cortex préfrontal est étroitement et réciproquement connecté avec le tronc cérébral, le thalamus, les ganglions de la base et le système limbique (notamment, l'amygdale et l'hippocampe). Le rôle fonctionnel de ces afférences en provenance du tronc cérébral, du diencephale et du système limbique serait de transmettre au cortex préfrontal des informations sur l'état interne de l'organisme, sur le niveau d'éveil, sur les conduites et les motivations de l'animal et les concomitants viscéraux aux émotions. Les connections les plus importantes pour ces fonctions d'intégration comportementales du cortex préfrontal sont les afférences en provenance de l'amygdale (Porrino et al, 1981) et de l'hypothalamus (Jacobson et al, 1978). Ces connections transmettraient aux lobes frontaux non seulement des informations sur l'état interne mais aussi sur la signification motivationnelle des stimuli sensoriels et joueraient un rôle fondamental dans la représentation et la mise en jeu des comportements émotionnels (Morgan et al, 1993). L'augmentation de l'intensité du marquage suite à l'application du choc électrique dans le noyau central de l'amygdale et dans le CA1 ventral de l'hippocampe serait le reflet de l'expérience aversive du choc électrique et l'augmentation de l'intensité du marquage dans le cortex préfrontal témoignerait de l'intégration de cette dimension aversive.

### CA1 ventral de l'hippocampe

Agnostaras et al (2001) ont mentionné la possibilité que l'hippocampe ventral, de part ses connections avec l'amygdale, joue un rôle plus général dans l'induction de la réponse de peur que l'hippocampe dorsal. L'hippocampe dorsal n'est pas

connecté directement à l'amygdale, mais seulement via l'hippocampe ventral (Pitkänen et al, 2000). Par ailleurs, certaines études lésionnelles montrent que l'hippocampe ventral est particulièrement important pour l'apparition d'un conditionnement aversif classique au son et au contexte, probablement en raison des connexions étroites de cette région avec le complexe amygdalien (Bast et al, 2001).

### Noyau central de l'amygdale

On attribue au complexe amygdalien un rôle dans une grande variété de fonctions, telle que la mémoire, l'attention, l'interprétation de la signification émotionnelle de stimulations sensorielles, la perception des mouvements du corps et l'élaboration des aspects émotionnels des rêves. Cependant, la contribution de l'amygdale aux processus émotionnels est de loin, la fonction la plus étudiée de cette région du cerveau (Rogan et LeDoux, 1996). Plus particulièrement, l'amygdale est impliquée dans la détection des événements émotionnels et la production de réponses autonomes et comportementales adaptées (Klüver et Bucy, 1938 ; Iwata et al, 1987). Cependant, le complexe amygdalien, situé dans le lobe temporal, n'est pas une structure homogène. Comme son nom l'indique c'est un regroupement de noyaux hétérogènes. Selon LeDoux et son équipe (Pitkänen et al, 1997), un stimulus un fois "entré" dans l'amygdale serait traité par un réseau intra-amygdalien complexe et extrêmement organisé. La représentation du stimulus serait distribuée en parallèle aux différents noyaux appartenant à ce complexe. La représentation du stimulus ainsi distribuée pourrait alors être modulée par différents systèmes fonctionnels comme ceux impliqués dans la mémorisation des expériences passées, ou ceux transmettant l'information sur l'état homéostatique de l'organisme. La voie de sortie du complexe amygdalien, et plus particulièrement le noyau central serait le point de convergence sur lequel



arriveraient les informations en provenance des autres noyaux amygdaliens. Son activité refléterait la somme des activités neuronales produites par les autres noyaux et serait à l'origine de la production de réponses comportementales adaptées. L'organisation du complexe amygdalien et les processus de traitement du stimulus tels que les envisage LeDoux pourraient expliquer nos résultats immunohistochimiques. En effet, le choc électrique induit une augmentation de l'intensité du marquage dans le noyau central (mais pas dans le noyau basolatéral) de l'amygdale. Cette augmentation significative dans le noyau central refléterait une forte activation résultant de la somme des activations (plus faibles et donc non détectées par immunohistochimie) des autres noyaux. Par ailleurs, on sait que le noyau basolatéral de l'amygdale (BLA) est impliqué dans l'apprentissage associatif (type conditionnement aversif). Or dans notre protocole, le choc électrique est indépendant de l'apprentissage, il n'est pas appliqué lors de l'acquisition mais juste avant la rétention et n'est a priori pas associé au contexte général dans lequel se déroule la restitution mnésique. Le fait que dans notre protocole, l'expérience aversive ne soit pas associée à l'information à retenir peut expliquer l'absence d'effet du choc sur le marquage du BLA. Certains auteurs ont montré que la lésion du noyau central de l'amygdale (mais pas le noyau latéral) réduit considérablement la réaction comportementale induite par le choc électrique (sauts, vocalisations, freezing) suggérant que ce noyau est particulièrement impliqué dans la perception ou la réponse induite par un stimulus aversif (Hitchcock et al, 1989). Ainsi, le noyau central de l'amygdale participe à la réponse au stress tant du point de vue comportemental, qu'autonome (Brown et Gray, 1988). Plus précisément, Roozendaal et al (1991) montrent que le noyau central de l'amygdale est nécessaire à l'organisation et/ou l'expression des composantes passives du comportement (immobilité) et participe à la réponse autonome (parasymphatique) lors d'un stress (Roozendaal et al,

1991a, 1991b). De plus, le fonctionnement du noyau central de l'amygdale influence fortement la sécrétion des hormones glucocorticoïdes (Dunn et Whitener, 1986).

### Noyau paraventriculaire de l'hypothalamus (PVN)

La réduction de l'intensité du marquage dans le PVN est plus difficile à comprendre. On s'attendrait plutôt à observer une augmentation d'expression de la protéine Fos dans cette structure. En effet, lorsqu'un organisme est soumis à un stress, il y a activation de l'axe corticotrope (axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien, Cf. Introduction générale). Sous l'effet du stress, les neurones parvicellulaires du noyau paraventriculaire de l'hypothalamus synthétisent la CRH (corticotropin releasing hormone) qui stimule la sécrétion d'ACTH (corticotropine) au niveau de l'hypophyse, L'ACTH stimule le cortex surrénalien qui libère des glucocorticoïdes (hormones de stress, corticostérone chez le rongeur) dans la circulation générale. Lorsque nous avons étudié l'activation de l'axe corticotrope suite à l'application du choc électrique, nous avons effectivement mis en évidence une augmentation de la concentration de corticostérone plasmatique chez les animaux choqués par rapport aux animaux non choqués. De plus, la littérature indique que de nombreux stimuli stressants (Sternberg et al, 1992), induisent classiquement cette réponse se traduisant généralement par une augmentation de l'immunoréactivité dans les cellules du PVN sécrétant la CRH (Covenas et al, 1993 ; Harbuz et al, 1993). Comment expliquer que nous n'observions pas cette augmentation classique d'activité du PVN alors que par ailleurs, l'étude endocrinienne indique une augmentation de la sécrétion de corticostérone ? Plusieurs explications complémentaires peuvent permettre de comprendre ce paradoxe.

i) Pourquoi n'observons nous pas l'augmentation de l'intensité du marquage dans le PVN classiquement observée suite à une expérience stressante ?

Dans notre protocole, le stress est suivi d'une épreuve de restitution mnésique. Le résultat immunohistochimique que nous obtenons est donc la résultante de deux expériences successives. En d'autres termes, nous n'observons pas seulement l'effet du stress comme dans la plupart des études citées précédemment mais nous observons les répercussions d'un stress sur la restitution mnésique. Il est possible que la juxtaposition des deux expériences modifie la réponse classique du PVN. En effet, une expérience complémentaire (**Cf. Annexe 2**) nous a permis de déterminer que le choc électrique délivré seul, sans l'épreuve de restitution consécutive induit effectivement une élévation de l'intensité du marquage dans le PVN par rapport à des animaux non choqués. Nous retrouvons donc des résultats cohérents avec la littérature. Dans notre protocole, c'est l'ajout de l'épreuve de restitution mnésique qui aboutit au résultat décrit précédemment, à savoir une intensité de marquage plus importante chez les animaux non choqués que chez les animaux choqués. Par ailleurs, d'autres auteurs ont également obtenu des résultats similaires, montrant qu'un taux élevé de corticostérone circulante inhibait l'expression de *c-fos* induite par le stress dans le PVN, par un mécanisme encore inconnu (Wan et al, 1993).

ii) Pourquoi, alors que le PVN est moins activé chez les animaux choqués, observe t'on chez eux toutefois une augmentation significative de la concentration de corticostérone plasmatique. ?

Tout d'abord, le PVN n'est pas le seul noyau qui synthétise la CRH, on trouve également des neurones synthétisant la CRH dans les cortex préfrontal et

cingulaire (Swanson et al, 1983), dans le noyau central de l'amygdale (Sakanaka et al, 1987), dans le noyau lit de la strie terminale, dans le noyau accumbens, l'hippocampe, le thalamus médiodorsal (Merchenthaler, 1984), la substance noire, le locus coeruleus, le noyau raphé, la substance grise périaqueducule et le cervelet. Cependant, il semble que la synthèse de CRH par d'autres noyaux que le PVN ne puisse pas être à l'origine de l'augmentation de la concentration de corticostérone plasmatique que nous avons observée dans l'étude endocrinienne. Néanmoins, certains auteurs ont mis en évidence qu'un stress pouvait induire une importante augmentation de l'expression du gène de la CRH dans le PVN, une à deux heures avant l'apparition de la protéine Fos. Cette augmentation d'expression du gène de la CRH serait d'avantage liée à la phosphorylation de CREB qu'à des mécanismes impliquant les gènes précoces (Kovács et Sawchenko, 1996). Par ailleurs, il a été montré que l'activité de glandes périphériques comme la corticosurrénale est relativement indépendante de l'activité des noyaux hypothalamiques qui contrôlent cette activité (Sternberg et al, 1992) ou de la sécrétion d'ACTH (Bradbury et al, 1991). Ainsi, on peut observer un taux élevé de corticostérone en l'absence d'une induction de *c-fos* dans le PVN. Cette relative indépendance peut s'expliquer d'une part parce que la sécrétion d'ACTH peut être stimulée par d'autres molécules que la CRH, comme la vasopressine ou l'ocytocine, d'autre part parce que le fonctionnement de l'axe corticotrope dépend du rythme circadien et la sécrétion des différentes molécules et/ou la sensibilité des différents tissus à ces molécules varient en fonction du moment de la journée (Bradbury et al, 1991). Enfin, il est également possible que les cellules du PVN responsables de la sécrétion de la CRH n'expriment pas toutes la protéine Fos mais d'autres gènes précoces comme le Fos B et le d Fos B. Quoi qu'il en soit, le stress par choc électrique induit une augmentation significative de la concentration de corticostérone plasmatique. Dans la littérature, la mesure de la

concentration de corticostérone systémique est considérée comme pertinente pour évaluer l'impact émotionnel d'un stimulus. De plus, la corticostérone est le produit final de l'activité de l'axe corticotrope et la molécule active, l'effecteur qui agit sur différents paramètres physiologiques et psychologiques. Cette mesure indique que le choc électrique induit bien une activation de l'axe corticotrope (même si cette activation n'est pas visible au niveau du PVN dans nos conditions).

### **CERVEAU ET TYPE D'INTERFERENCE**

Les résultats indiquent que parmi les structures que nous avons étudiées, seul le cortex rhinal semble être sensible au type d'interférence puisqu'il présente une activation plus forte lors de la première discrimination (en situation d'interférence rétroactive) que lors de la seconde discrimination (en situation d'interférence proactive). De plus en plus d'études suggèrent que le cortex rhinal, notamment le cortex perirhinal joue un rôle particulier dans certains processus mnésiques, dissociable de celui joué par l'hippocampe (Brown et al, 1987, Gaffan, 1994 ; Aggleton, 1999 ; Coutureau et al, 1999). Ainsi, des études comportementales sur des singes porteurs de lésions expérimentales du cortex rhinal montrent que cette structure est impliquée dans de nombreux processus cognitifs, comme l'apprentissage de discriminations visuelles (Buckley et Gaffan, 1997), la reconnaissance (Meunier et al, 1996) et la reconnaissance d'objets (Ennaceur, 1996). Le cortex rhinal semble notamment être indispensable aux épreuves nécessitant le jugement de la familiarité relative ou de la récence relative dans une épreuve de reconnaissance de séries d'images complexe ou d'objets (Fahy et al, 1993 ; Aggleton, 1999). En enregistrant l'activité unitaire de 2705 neurones localisés dans les cortex enthorinal et perirhinal, Fahy et son équipe ont montré que certains neurones fournissaient des informations

concernant la familiarité des items (activation plus importante pour les stimuli nouveaux que pour les stimuli familiers) et que d'autres neurones fournissaient des informations relatives à la récence de présentation des items (activation plus importante pour les stimuli les plus récemment présentés). Dans notre épreuve de discriminations spatiales, le cortex rhinal présente une activité Fos plus importante sur la première discrimination (la plus ancienne) que sur la seconde (la plus récente). Bien que dans notre expérience, l'activation la plus importante s'observe pour l'information la plus ancienne (et non la plus récente comme dans l'étude citée précédemment), le cortex rhinal paraît être effectivement impliqué dans la discrimination entre informations récentes et informations plus anciennes. D'un point de vue anatomique, le cortex rhinal et plus particulièrement le cortex perirhinal est étroitement et fonctionnellement connecté au thalamus médiodorsal. D'après Aggleton et son équipe (1999) ce circuit anatomique (cortex rhinal - thalamus médiodorsal) serait impliqué dans la détection de la familiarité relative et de la récence relative (Wan et al, 1999).

### **CERVEAU STRESS ET MEMOIRE**

Parmi les structures que nous avons étudiées, la seule pour laquelle l'interaction type d'interférence (rétroactive versus proactive) X choc électrique est significative est le thalamus médiodorsal. Cette structure semble donc intégrer à la fois la dimension mnésique et la dimension émotionnelle de l'épreuve comportementale. De plus, l'activité de cette structure est négativement corrélée aux performances et positivement corrélée aux réponses fausses. En d'autres termes plus le thalamus médiodorsal est activé, moins les performances sont bonnes et plus les réponses fausses sont nombreuses.

Le thalamus médiodorsal (MD) constitue une région importante du thalamus chez les mammifères. De nombreuses études suggèrent que le MD est impliqué

dans de nombreuses fonctions cognitives comme l'apprentissage, la mémoire et les émotions. Les patients porteurs de lésions diencéphalique incluant le MD peuvent présenter un syndrome de Korsakoff se manifestant par une amnésie globale et des perturbations émotionnelles diverses (Victor et al, 1989). Des études neuropsychologiques chez l'homme et chez l'animal suggèrent que la lésion du MD pourrait être responsable de l'amnésie diencéphalique (Squire et Moore, 1979 ; Aggleton et Mishkin, 1983 ; Zola-Morgan et Squire, 1985). D'après Aggleton (1999) le thalamus médiodorsal s'intègre, avec le cortex rhinal, à l'intérieur d'un circuit impliqué dans la détection de la familiarité et de la récence. La lésion du MD provoque également des changements de l'état affectif (Butter et Snyder, 1972 ; Waring et Means, 1976 ; Béracochéa et Krazem, 1991). Toutes ces études mettent en avant la diversité fonctionnelle du MD. D'un point de vue anatomique, le MD occupe une position particulière où convergent des systèmes moteurs, cognitifs, motivationnels et émotionnels. En effet, le MD entretient des relations anatomiques étroites et réciproques avec le cortex préfrontal (Ray et Price, 1992 ; Fuster, 1997), certains cortex limbiques comme le cortex cingulaire, les cortex orbital et temporal (Goldman-Rakic et Porrino, 1985 ; Groenewegen, 1988). Il reçoit également des projections en provenance de structures sous corticales comme le striatum, l'amygdale et le tronc cérébral (Aggleton et Mishkin, 1984 ; Groenewegen, 1988).

Nos données immunohistochimiques montrent que le MD présente une activation différente selon le type d'information restituée et selon l'état de stress. Parallèlement l'étude de corrélations indique que cette activation est négativement corrélée aux performances. Ces résultats suggèrent qu'effectivement le MD jouerait un rôle important dans l'intégration des informations émotionnelles et des processus mnésiques et participerait ainsi à la production d'une réponse comportementale adaptée.

# Chapitre V

VALIDATION PHARMACOLOGIQUE DE  
L'ÉPREUVE DE DSCS



## INTRODUCTION

A l'aide du modèle comportemental (DSCS) décrit dans le chapitre IV, nous avons entrepris une étude pharmacologique afin d'étudier plus précisément l'implication de diverses voies de signalisation dans la modulation des processus de restitution mnésique par le stress. Nous avons essentiellement centré notre travail sur le rôle des transmissions Gabaergique et cholinergique et le rôle de la libération de corticostérone dans ces processus.

### Neurotransmission Gabaergique

L'acide gamma-aminobutyrique (GABA) est un neurotransmetteur inhibiteur, qui joue à ce titre un rôle important dans le contrôle inhibiteur des circuits neuronaux, notamment sur la régulation de l'activité électrique des cellules de l'hippocampe. Le récepteur GABAA est un récepteur-canal, qui, lorsqu'il est activé par le GABA, répond par une augmentation rapide et transitoire de la perméabilité aux ions chlorure (Cl<sup>-</sup>). En dehors du site de fixation du GABA, ce récepteur possède plusieurs autres sites de fixation topographiquement distincts et capables de reconnaître des substances actives cliniquement : les barbituriques, les stéroïdes et les benzodiazépines. L'utilisation de molécules agonistes (benzodiazépines) ou agonistes inverses ( $\beta$ -carboline) a permis de conclure à une implication de cette voie de signalisation dans les processus mnésiques et l'anxiété. En effet, les données recueillies chez l'homme et chez l'animal montrent que les benzodiazépines (augmentant la transmission Gabaergique) sont anxiolytiques et ont un effet amnésiant sur l'acquisition et la mémorisation de nombreux apprentissages, (Brown et al, 1982 ; Lister, 1985 ; Thiébot, 1985 ; Curran, 1986, 1991 ; Hennessy et al, 1991 ; McNamara, 1991 ; Borde et al, 1998, 1999) alors qu'à l'inverse, la  $\beta$ CCM (réduisant la transmission

Gabaergique) augmente l'anxiété (File et Baldwin, 1987 ; Stephens et al, 1987 ; Belzung et al, 1987) et améliore certaines performances mnésiques (Venault et al, 1986, 1987 ; File et Pellow, 1988 ; Raffan-Sebille et al, 1990 ; Krazem et al, 2001). Selon McNamara (1992, 1993), les effets émotionnels et mnésiques des benzodiazépines et des  $\beta$ -carboline seraient indépendants et les troubles mnésiques résulteraient davantage de la perturbation indirecte de l'activité cholinergique, alors que pour d'autres auteurs, les effets mnésiques et émotionnels seraient liés. Même si une telle relation causale reste encore discutée, il apparaît clairement que la modulation de la transmission Gabaergique par des molécules agonistes ou agonistes inverses de ce récepteur induit des modifications émotionnelles et mnésiques, ces dernières pouvant ne concerner que la phase de restitution du souvenir (Borde et al, 1996, 1998). Par ailleurs, nous avons mis en évidence dans le chapitre précédent qu'un choc électrique pourvu d'un effet anxiogène, délivré 5 minutes avant l'essai de rétention, induit une modulation de la restitution mnésique (une perturbation de la restitution de la première discrimination accompagnée d'une amélioration de la restitution de la deuxième discrimination). De plus, l'étude immunohistochimique indique que les corps mamillaires de l'hypothalamus, sont activés dans certaines modalités de notre protocole. Or cette région du cerveau, pourvue d'une densité importante de récepteurs GABA/BDZ (Eymin et al, 1992) est impliquée dans les processus émotionnels et mnésiques, notamment la restitution du souvenir (Lhermitte et Signoret, 1972). Afin d'étudier une éventuelle implication de cette voie Gabaergique dans la modulation de la restitution mnésique dans notre épreuve, nous avons voulu vérifier si l'injection de Methyl- $\beta$ -carboline-3-carboxylate (BCCM), molécule agoniste inverse du récepteur GABA/BDZ et dotée d'un pouvoir anxiogène pouvait mimer l'effet du choc électrique sur la restitution mnésique.

### Neurotransmission Cholinergique

Depuis une trentaine d'années, différentes études ont mis en évidence le rôle de l'acétylcholine dans la mémoire chez l'homme comme chez l'animal (Deutsh, 1971 ; Safer et Allen, 1971 ; Drachman et Leavitt, 1974). Ces études indiquent que divers traitements cholinergiques (agonistes, antagonistes et antiestérasiques) exercent, chez des sujets normaux, un effet modulateur sur les processus mnésiques. Par ailleurs, les déficits mnésiques associés aux maladies d'Alzheimer ou Huntington (Bartus et al, 1982 ; Davies, 1985 ; Beatty et Butters, 1986) ainsi qu'au vieillissement (McGeer et al, 1984) et au syndrome de Korsakoff (O'Donnell et al, 1986) sont attribués par certains auteurs, à un affaiblissement de la neurotransmission cholinergique. L'étude de l'implication de la transmission cholinergique dans la mémoire s'est essentiellement centrée sur les processus d'acquisition (Hagan et al, 1986 ; Riekkinen et al, 1990 ; Cozzolino et al, 1994) et de consolidation (Flood et al, 1981 ; Hagan et al, 1986 ; Flexner et al, 1991 ; Flood et Cherkin, 1986). En revanche, le rôle du système cholinergique dans la restitution des souvenirs a été relativement peu étudié (Deutsch et Leibowitz, 1966). A ce propos, des travaux un peu plus récents aboutissent à des conclusions opposées, certains auteurs soutiennent que les systèmes cholinergiques ne sont pas impliqués dans la récupération des souvenirs (Beatty et al, 1985 ; Buresova et al, 1986 ; Spangler et al, 1988 ; Riekkinen et al, 1990), d'autres à l'inverse pensent que le rôle de l'acétylcholine est prépondérant dans le processus de restitution (Okaichi et Jarrard, 1982 ; Okaichi et al, 1989). Afin d'étudier une éventuelle implication du système cholinergique dans la modulation des processus de restitution, nous étudions dans ce chapitre l'effet de l'augmentation de la transmission cholinergique par la physostigmine, molécule inhibitrice de la cholinestérase, sur la restitution.

### Glucocorticoïdes

C'est au début des années 60 qu'on a découvert que les hormones sécrétées par les glandes périphériques, notamment les glucocorticoïdes, pouvaient pénétrer dans le cerveau et ainsi modifier le comportement. La découverte en 1968 (McEwen et al) d'une forte densité de récepteurs à la corticostérone (hormone de stress chez le rongeur) dans l'hippocampe, région cruciale pour l'apprentissage et la mémoire, est à la base des recherches actuelles étudiant les effets du stress sur les processus mnésiques. Ainsi, de nombreuses études démontrent que le stress et les glucocorticoïdes influencent la mémoire chez l'homme comme chez l'animal (Shors et al, 1992 ; Roozendaal et Mc Gaugh, 1996 ; Sandi et al, 1997; Lupien et Mc Ewen, 1997). La plupart des études antérieures ont essentiellement porté sur l'effet des glucocorticoïdes sur l'acquisition, la consolidation et le stockage à long terme de nouvelles informations (Sandi et al, 1995 ; Lupien et Mc Ewen, 1996 ; Venero et Sandi, 1997). En revanche, l'effet du stress et des glucocorticoïdes sur la phase de restitution des informations est relativement peu étudié (De Quervain et al, 1998, 2000). Par ailleurs, l'étude endocrinienne décrite dans le chapitre IV indique que le choc électrique délivré 5 minutes avant l'essai de rétention, entraîne une activation significative de l'axe corticotrope concomitante des effets du stress sur les processus de restitution mnésique. Nous avons formulé l'hypothèse que l'augmentation de la concentration de corticostérone plasmatique chez les animaux choqués est en partie responsable des effets comportementaux observés (à savoir une perturbation de la restitution de la première discrimination accompagnée d'une amélioration de la restitution de la deuxième discrimination). Les effets du stress sur les processus de restitution mnésique pourraient en effet s'exercer par l'intermédiaire d'une modulation des mécanismes centraux par la corticostérone

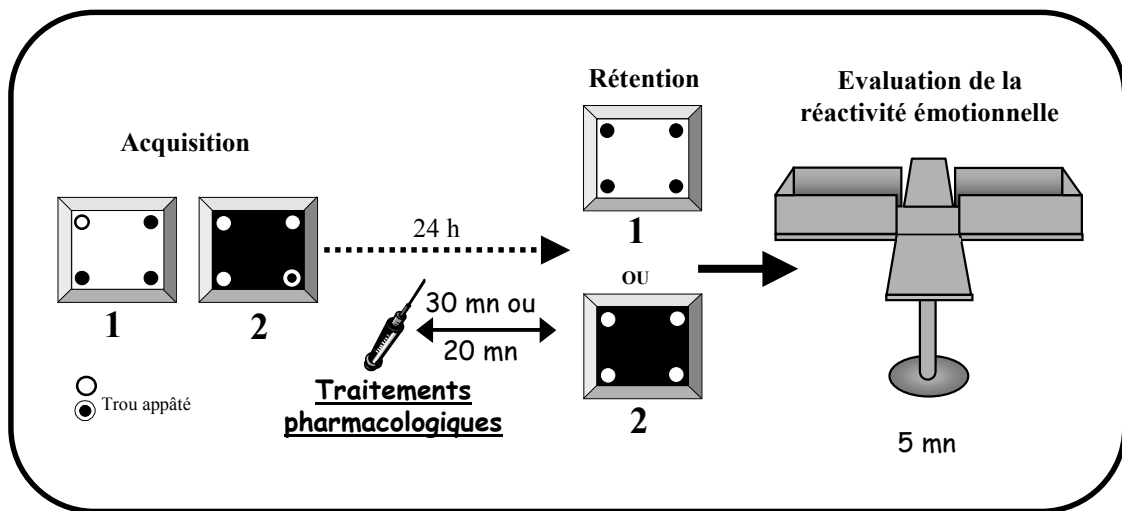


Figure V.1 : Procédure expérimentale permettant d'étudier les effets de différents traitements pharmacologiques sur la restitution de 2 discriminations contextuelles sérielles et sur la réactivité émotionnelle

circulante. Pour éprouver cette hypothèse et établir ce lien de causalité, nous étudions dans ce chapitre l'effet de l'inhibition de la synthèse de corticostérone par la metyrapone.

## **I. EFFET DE L'INJECTION DE METHYL-?-CARBOLINE-3-CARBOXYLATE SUR LA RESTITUTION DANS L'EPREUVE DE DSCS.**

### **A. PROCEDURE EXPERIMENTALE (Cf. Figure V.1)**

#### **1. protocole**

Le protocole de l'épreuve comportementale est identique à celui décrit précédemment, hormis la phase de « pré-traitement » (délivrance du choc électrique) qui n'est pas incluse dans cette étude.

Les souris effectuent les 2 discriminations successivement comme précédemment décrit puis sont replacées dans leur cage à l'animalerie. Vingt-quatre heures après, elles reçoivent une injection intra-péritonéale de  $\beta$ CCM (0.5mg/kg ou 1.5 mg/kg) ou de solvant. Trente minutes après l'injection, elles sont replacées dans la planche à trous pour un essai de rétention portant soit sur la 1<sup>ère</sup> discrimination, soit sur la 2<sup>ème</sup>. Immédiatement après l'essai de rétention, les animaux sont placés, pour une durée de 5 minutes, dans le labyrinthe en croix surélevé, afin d'évaluer la réactivité émotionnelle dans cette situation.

## 2. Constitution des groupes expérimentaux

Les animaux ont été répartis en 6 groupes

TRAITEMENT	DOSE	DISCRIMINATION	Effectifs
βCCM (Methyl-β-carboline- 3-carboxylate)	0.5 mg/kg IP :0.1ml/10g	Discri 1 (interférence rétroactive)	N = 7
		Discri 2 (interférence proactive)	N = 7
	1.5 mg/kg IP :0.1ml/10g	Discri 1 (interférence rétroactive)	N = 7
		Discri 2 (interférence proactive)	N = 7
TEMOINS SOLVANT	IP :0.1ml/10g	Discri 1 (interférence rétroactive)	N = 6
		Discri 2 (interférence proactive)	N = 6

## B. RESULTATS

### 1. Acquisition

L'analyse porte sur l'ensemble des animaux de cette expérience (N=40), puisque les souris sont réparties en groupes distincts en fonction du traitement (βCCM 0.5 mg/kg ou βCCM 1.5 mg/kg ou solvant) seulement après l'acquisition.

Les résultats de la phase d'acquisition sont en tous points comparables aux résultats des souris jeunes adultes (Cf. chapitre IV). Mais en résumé, on observe que l'apprentissage de la 2<sup>ème</sup> discrimination est influencé par celui de la 1<sup>ère</sup>. En effet, lors de l'apprentissage de la 2<sup>ème</sup> discrimination, le trou interférent (appâté lors de l'acquisition précédente) n'est plus neutre et il est plus fréquemment visité que les autres trous non appâtés ; néanmoins, il reste moins visité que le trou appâté. En revanche, l'activité exploratoire des animaux n'est pas modifiée d'une acquisition à l'autre.

### 2. Rétention

a. Effet de la βCCM sur la réactivité émotionnelle mesurée en labyrinthe en croix surélevé (Cf. Figure V.2)

Dans la mesure où le type d'interférence (proactive versus rétroactive)

## Réactivité émotionnelle

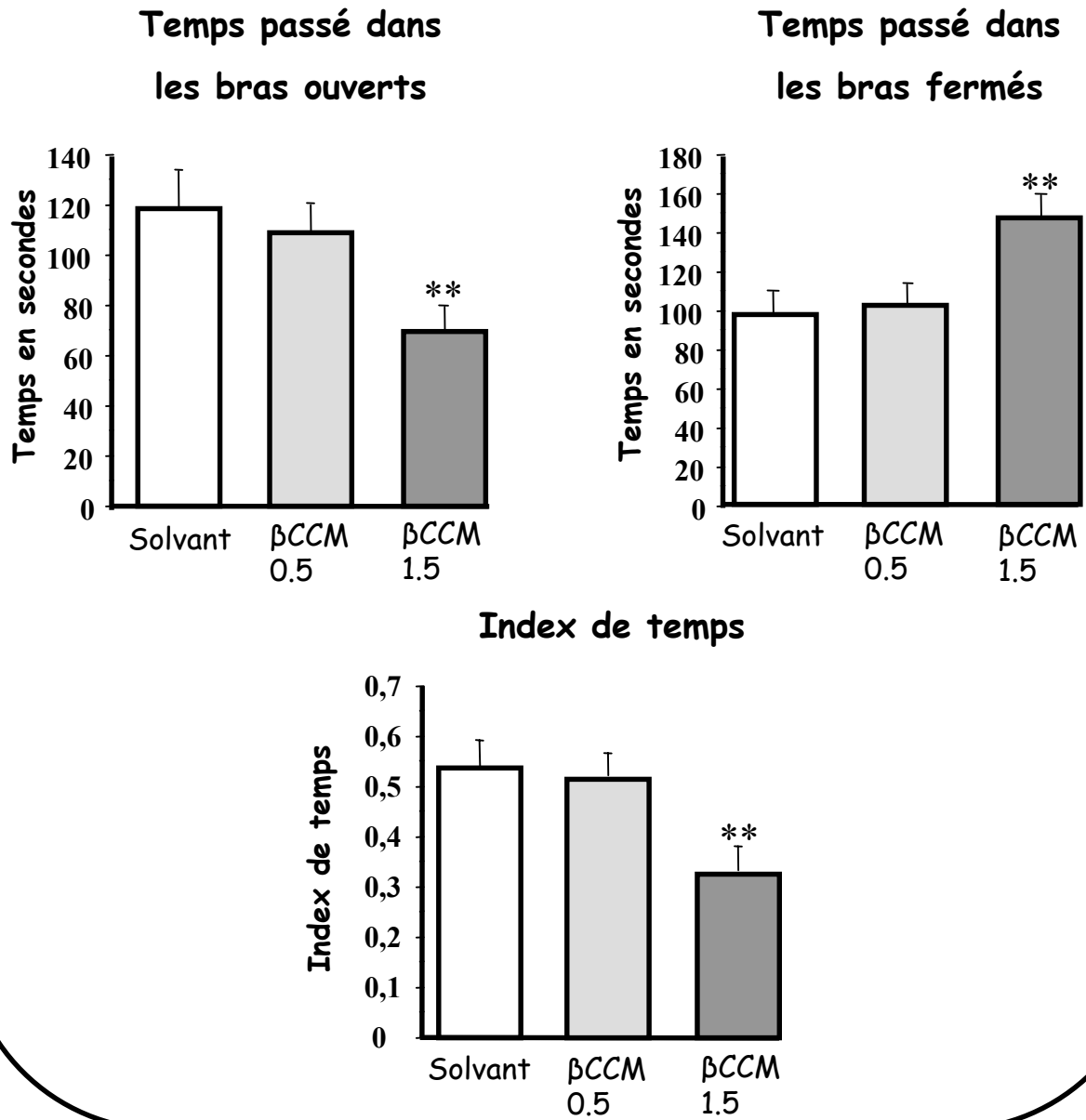


Figure V.2 : Effets de la  $\beta$ CCM sur la réactivité émotionnelle évaluée dans le labyrinthe en croix surélevé.



n'affecte aucune des variables mesurées dans le labyrinthe en croix surélevé, quel que soit le traitement, les données des souris réalisant la discrimination 1 et la discrimination 2 ont été regroupées.

Parmi les différents paramètres mesurés dans le labyrinthe en croix surélevé (Cf. Chapitre II) nous ne mentionnerons dans les analyses suivantes que ceux qui sont sensibles au traitement.

L'analyse globale révèle un effet significatif du traitement sur le temps passé dans les bras ouverts ( $F(2,37) = 4.8$  ;  $p = 0.01$ ), sur le temps passé dans les bras fermés ( $F(2,37) = 6.0$  ;  $p = 0.006$ ) ainsi que sur l'index de temps ( $F(2,37) = 6,096$  ;  $p = 0,005$ ). Le temps total passé dans les 4 bras, quant à lui, n'est pas sensible au traitement ( $F < 1.0$ ). Plus précisément, les animaux  $\beta\text{CCM } 1,5$  passent significativement moins de temps dans les bras ouverts que les animaux témoins ( $36.2 \pm 9.6$  secs versus  $52.1 \pm 15$  secs respectivement ;  $p = 0.007$ ). Les animaux  $\beta\text{CCM } 0,5$  ( $41.7 \pm 11.1$  secs) quant à eux ne diffèrent pas des témoins ( $p > 0.05$ ). Les animaux  $\beta\text{CCM } 1.5$  passent significativement plus de temps dans les bras fermés que les témoins ( $146.3 \pm 11.9$  sec versus  $96.9 \pm 11.2$  sec respectivement;  $p = 0.004$ ) et que les animaux  $\beta\text{CCM } 0.5$  ( $102.2 \pm 10.1$  sec ;  $p = 0.007$ ). Enfin, l'index de temps des animaux  $\beta\text{CCM } 1.5$  est significativement inférieur à celui des animaux témoins ( $0,326 \pm 0,047$  et  $0,538 \pm 0,052$  respectivement;  $p = 0,003$ ) et à celui des animaux  $\beta\text{CCM } 0.5$  ( $0,514 \pm 0,044$  ;  $p = 0.006$ ). Ces derniers ne diffèrent pas des animaux témoins ( $p = 0,7$ ).

**En résumé, les résultats montrent un effet dose dépendant de la  $\beta\text{CCM}$  sur la réactivité émotionnelle des animaux : la dose de 1,5 mg/kg est anxiogène, alors que la dose de 0,5 mg/kg est sans effet sur la réactivité émotionnelle.**

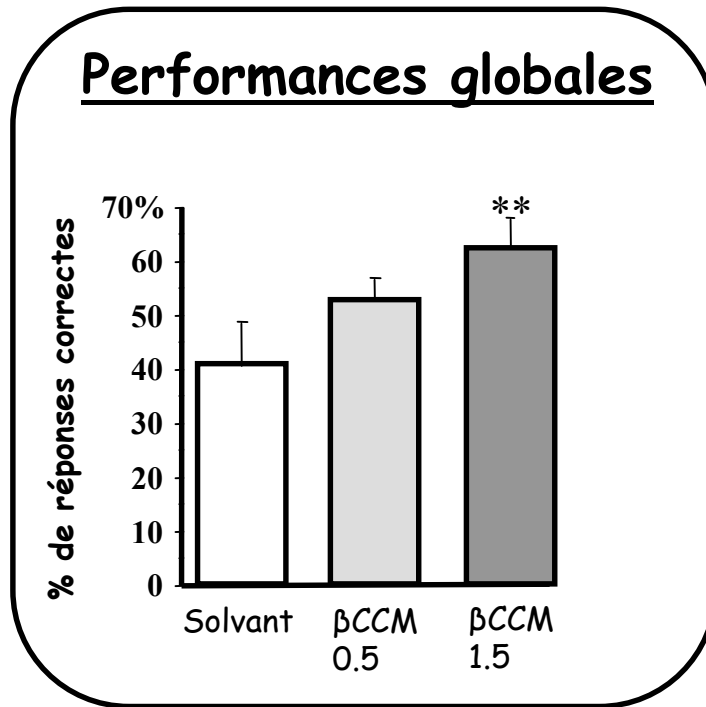


Figure V.3 : Effets de la  $\beta$ CCM sur les performances globales lors de l'essai de rétention

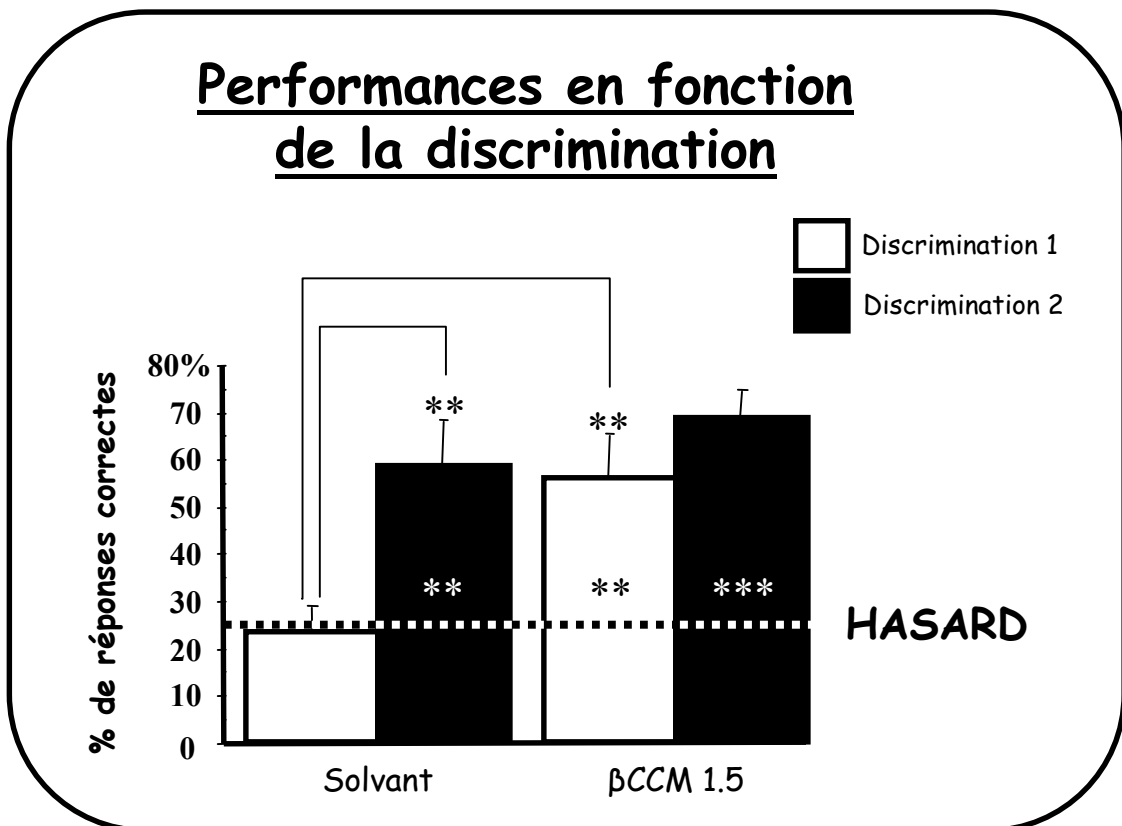


Figure V.4 : Effets de la  $\beta$ CCM 1.5 sur les performances en fonction de la discrimination

## b. Effet de la $\beta$ CCM sur la restitution mnésique

### *i) Performances*

Cette analyse compare les performances globales observées lors de la restitution chez les souris solvant et les souris traitées à la  $\beta$ CCM (0.5 et 1.5 mg/kg) dans les discriminations 1 et 2 regroupées. (Cf. Figure V.3)

On remarque un effet « traitement » significatif sur la restitution mnésique ( $F(2,37) = 3,72$  ;  $p = 0,03$ ). Plus précisément, les performances des animaux  $\beta$ CCM 1,5 sont significativement meilleures que celles des témoins ( $62.3 \pm 5.3$  et  $40,8 \pm 7.4$  respectivement;  $p = 0,009$ ), alors que les performances des animaux  $\beta$ CCM 0,5 ( $52.6 \pm 3.7$ ) ne diffèrent pas des solvants ( $p = 0.14$ ).

**En résumé, les données précédentes révèlent un effet dose dépendant de la  $\beta$ CCM sur la restitution mnésique : la dose de 1.5 mg/kg améliore significativement les performances alors que la dose de 0.5 mg/kg est sans effet sur la restitution.**

Dans la mesure où les résultats précédents révèlent l'absence d'effet anxiogène ou mnésique de la  $\beta$ CCM à 0,5 mg/kg, les analyses suivantes ne porteront que sur la  $\beta$ CCM à 1,5 mg/kg, qui provoque un effet anxiogène dans le labyrinthe en croix surélevé et accroît significativement la reconnaissance des trous appâtés.

Nous avons voulu préciser l'effet du traitement avec la  $\beta$ CCM 1,5 en fonction du type d'interférence (discrimination 1 ou interférence rétroactive versus discrimination 2 ou interférence proactive). (Cf. Figure V.4)

L'analyse globale indique un effet significatif du traitement ( $F(1, 22) = 8.13$  ;  $p = 0.009$ ) et du type d'interférence ( $F(1,22) = 10.0$  ;  $p = 0.005$ ). L'interaction n'est

## Interférences

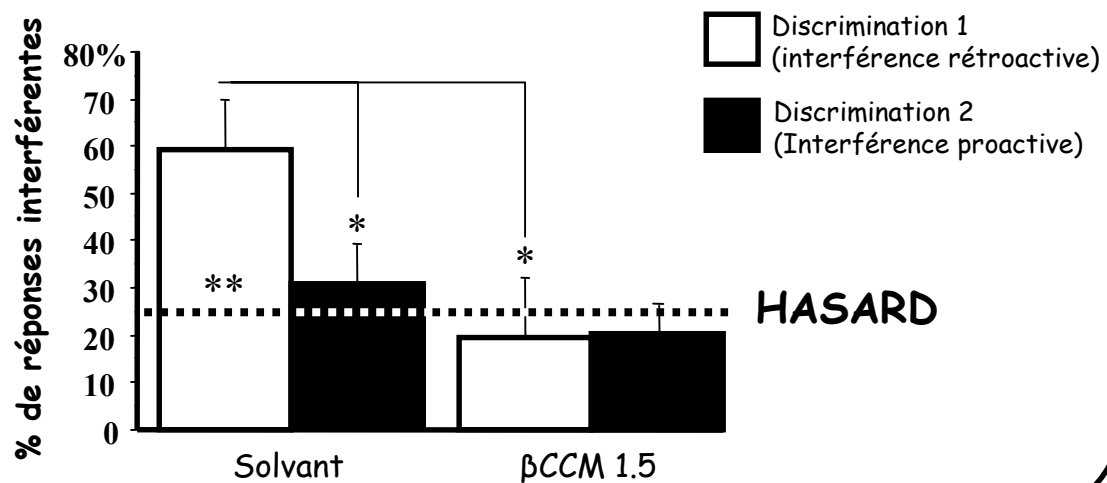


Figure V.5 : Effets de la  $\beta$ CCM 1.5 sur le pourcentage d'interférences en fonction de la discrimination.

pas significative ( $F(1,22) = 2.22$  ;  $p = 0.15$ ). Plus précisément, les animaux témoins réussissent significativement mieux la 2<sup>ème</sup> discrimination ( $58.3 \pm 9.5\%$  de réponses correctes) que la 1<sup>ère</sup> discrimination ( $23.3 \pm 5.2\%$  ;  $F(1,10) = 10.52$  ;  $p = 0.009$ ). De plus, les performances pour la 2<sup>ème</sup> discrimination sont significativement au-dessus du hasard ( $t = 3.52$  ;  $p = 0.01$ ) alors qu'elles sont au hasard pour la 1<sup>ère</sup> discrimination ( $t = -0.322$  ;  $p = 0.8$ ). L'injection de  $\beta$ CCM 1,5 améliore significativement les performances par rapport aux témoins sur la 1<sup>ère</sup> discrimination ( $56.0 \pm 8.8\%$  de réponses correctes et  $23.3 \pm 5.2\%$  respectivement ;  $F(1,11) = 9.3$  ;  $p = 0.01$ ). De plus, chez les souris traitées à la  $\beta$ CCM 1,5, les performances sont significativement supérieures au hasard sur la 1<sup>ère</sup> discrimination ( $t = 3.5$  ;  $p = 0.01$ ) comme sur la 2<sup>ème</sup> ( $68.6 \pm 5.5\%$  de réponses correctes ;  $t = 7.9$  ;  $p = 0.0002$ ).

### *ii) Analyse des erreurs*

Le pourcentage de réponses fausses est significativement inférieur au hasard quelle que soit la discrimination ( $p < 0.002$  dans tous les cas) et n'est pas modifié par le traitement ( $F < 1.0$ ).

Une analyse portant sur le pourcentage de réponses interférentes (Cf. figure V.5) révèle un effet significatif du traitement ( $F(1,22) = 7.65$  ;  $p = 0.01$ ). En revanche, le type d'interférence n'a pas d'effet significatif ( $F(1,22) = 2.4$  ;  $p = 0.15$ ) et l'interaction n'est pas significative ( $F(1,22) = 2.7$  ;  $p = 0.1$ ). Plus précisément, les animaux témoins expriment un pourcentage d'interférences rétroactives significativement supérieur au hasard ( $t = 3.6$  ;  $p = 0.01$ ) et significativement plus élevé que le pourcentage d'interférences proactives ( $F(1,10) = 5.4$  ;  $p = 0.04$ ). La  $\beta$ CCM 1,5 réduit significativement le pourcentage d'interférence rétroactive par rapport aux témoins ( $19.4 \pm 11.2\%$  de réponses interférentes et  $59.4 \pm 9.5\%$  respectivement ;  $F(1,11) = 6.7$  ;  $p = 0.025$ ). En

revanche, le pourcentage d'interférences proactives est au hasard chez les témoins ( $30.5 \pm 8.1\%$ ;  $t = 0.67$  ;  $p = 0.5$ ) et n'est pas modifié par l'injection de  $\beta$ CCM ( $20.2 \pm 5.4\%$  ;  $F(1,11) = 1.15$  ;  $p = 0.3$ ).

*iii) Analyse de l'activité exploratoire lors de l'essai de rétention*

L'analyse globale du nombre total de visites indique que ni le traitement ( $F < 1.0$ ) ni le type d'interférence ( $F < 1.0$ ) n'ont d'effets sur l'activité exploratoire des animaux. L'interaction n'est pas significative ( $F < 1.0$ ).

**En résumé, les données indiquent i) que les animaux témoins solvants restituent mieux la 2<sup>ème</sup> discrimination que la 1<sup>ère</sup> pour laquelle les performances sont au hasard (c'est l'inverse qui était observé chez les animaux normaux des expériences décrites dans le chapitre IV). ii) que ce faible pourcentage de réponses correctes est associé à une interférence rétroactive forte iii) que la  $\beta$ CCM à la dose « anxiogène » de 1.5 mg/kg améliore les performances sur la 1<sup>ère</sup> discrimination en réduisant l'interférence rétroactive iv) enfin, que la  $\beta$ CCM n'a aucun effet sur le comportement exploratoire des animaux.**

Remarque : Afin de vérifier si la réponse comportementale des témoins solvants est liée à l'injection du solvant (« effet solvant ») ou à la piqûre IP (« effet piqûre »), les groupes témoins solvants des deux expériences suivantes seront constitués d'animaux piqués injectés et d'animaux piqués non injectés.

*iv) Analyses complémentaires (Cf. Figure V.6)*

Nous avons effectué une étude de corrélations entre les paramètres mnésiques mesurés lors de l'essai de rétention et les paramètres de réactivité émotionnelle mesurés dans le labyrinthe en croix surélevé.

Cette étude nous a permis de mettre en évidence plusieurs corrélations :

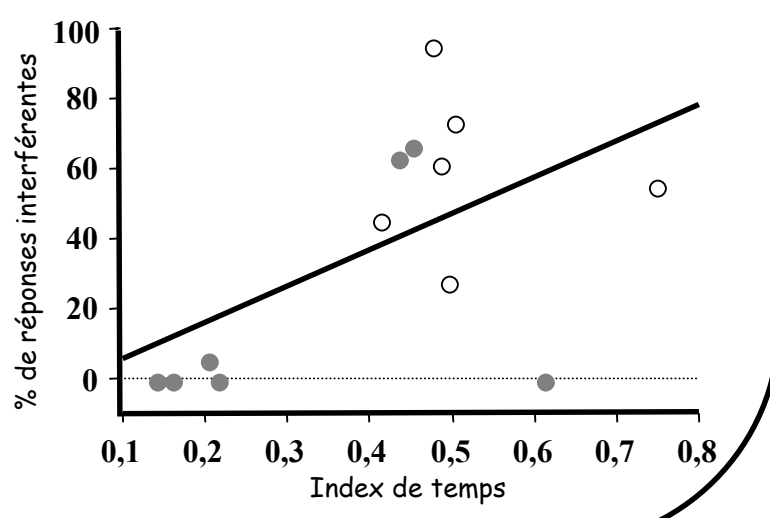
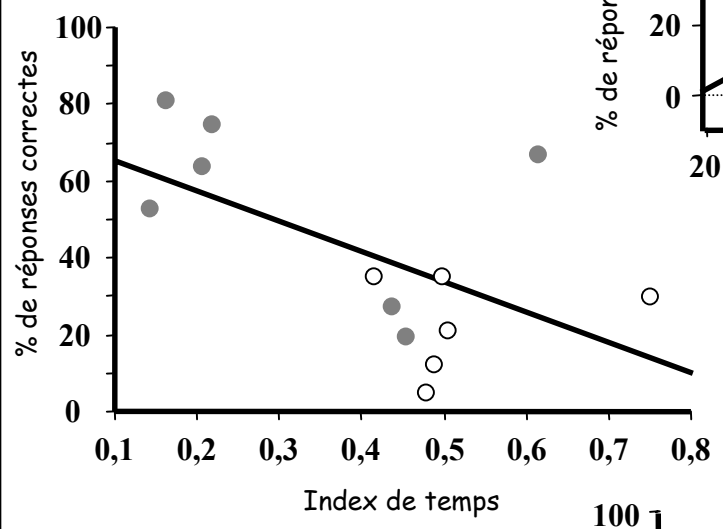
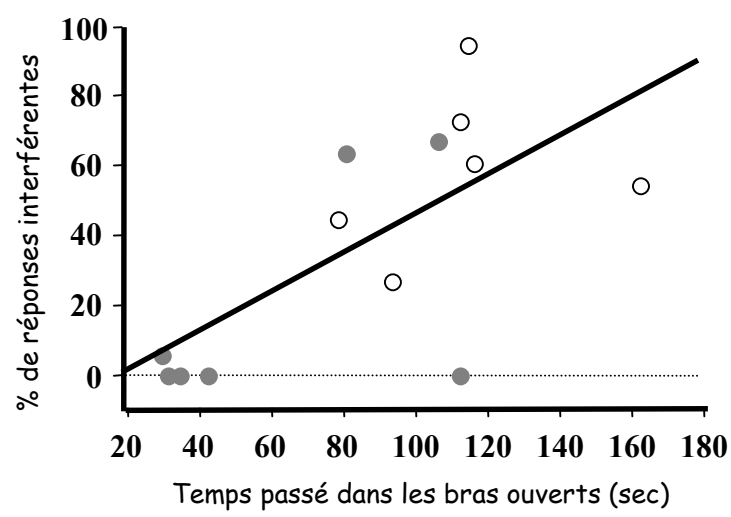
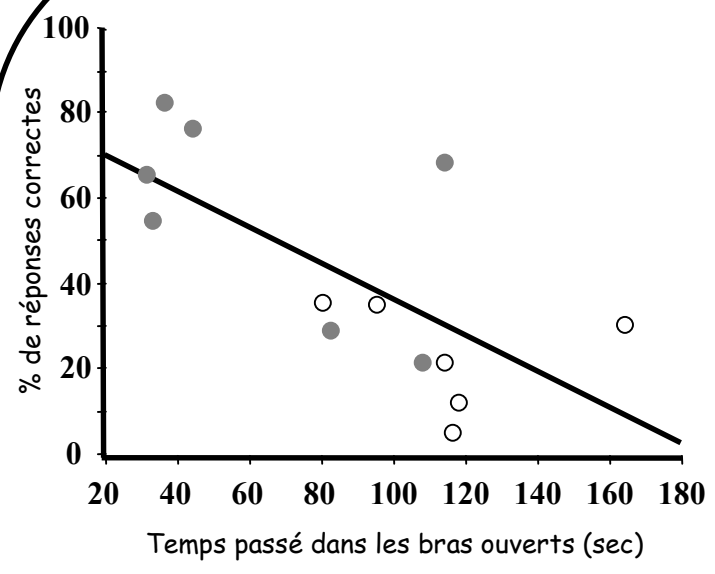


Figure V.6 : Corrélations entre restitution mnésique ou interférences et réactivité émotionnelle.

- une corrélation négative entre les performances et le temps passé dans les bras ouverts ( $r = -0.69$  ;  $p = 0.007$ ) : autrement dit, moins les animaux passent de temps dans les bras ouverts, plus leurs performances sont bonnes.

- une corrélation négative entre les performances et l'index de temps ( $r = -0.575$  ;  $p = 0.03$ )

Ces résultats indiquent que plus les animaux sont anxieux, plus leurs performances sont élevées.

- Une corrélation positive entre le pourcentage d'interférence rétroactive et le temps passé dans les bras ouverts ( $r = 0.68$  ;  $p = 0.009$ ) : moins les animaux passent de temps dans les bras ouverts, moins ils font d'interférences rétroactives.

- Une corrélation positive entre l'interférence et l'index de temps ( $r = 0.56$  ;  $p = 0.045$ ).

Ces résultats indiquent que plus les animaux sont anxieux, moins ils font d'interférences rétroactives

**En résumé, les données précédentes indiquent que la restitution mnésique sur la 1<sup>ère</sup> discrimination et la réactivité émotionnelle sont corrélées. Les choix corrects sont d'autant plus élevés et le taux d'interférences rétroactives d'autant plus faible que le niveau d'anxiété est élevé. L'effet promnésiant de la  $\beta$ CCM 1.5 est donc corrélé à son effet anxiogène.**



## II. EFFETS DE L'INJECTION DE PHYSOSTIGMINE SUR LA RESTITUTION DANS L'ÉPREUVE DE DSCS.

### A. PROCEDURE EXPERIMENTALE

#### 1. Protocole (Cf. Figure V.1, p.146)

Le déroulement de l'épreuve comportementale est identique à celui décrit précédemment. 20 minutes avant l'essai de rétention, les souris reçoivent une injection intra-péritonéale de physostigmine ( 0.05 mg/kg ou 1 mg/kg) ou de solvant.

#### 2. Constitution des groupes expérimentaux

Les animaux ont été répartis en 6 groupes :

TRAITEMENT	DOSE	DISCRIMINATION	Effectifs
PHYSOSTIGMINE	0.05 mg/kg IP :0.1ml/10g	Discr1 (interférence rétroactive)	N = 8
		Discr2 (interférence proactive)	N = 8
	0.1 mg/kg IP :0.1ml/10g	Discr1 (interférence rétroactive)	N = 7
		Discr2 (interférence proactive)	N = 8
TEMOINS SOLVANT	IP :0.1ml/10g	Discr1 (interférence rétroactive)	N = 7
		Discr2 (interférence proactive)	N = 6

Remarque : Afin d'éventuellement dissocier « l'effet solvant » de « l'effet piqure », le groupe témoins solvant est constitué d'animaux piqués injectés (N = 4 et N = 3) et d'animaux piqués non injectés (N = 3 et N = 3). Dans la mesure où l'analyse statistique ne montre aucune différence significative entre ces deux populations, leurs données ont été regroupées.

### B. RESULTATS

#### 1. Acquisition

Dans la mesure où les animaux ne sont répartis en différents groupes, en fonction du traitement (Physo 0.05 ou physo 0.1) qu'après l'acquisition, nous avons effectué l'analyse sur l'ensemble des animaux de cette expérience (N= 46).

## Labyrinthe en croix surélevé

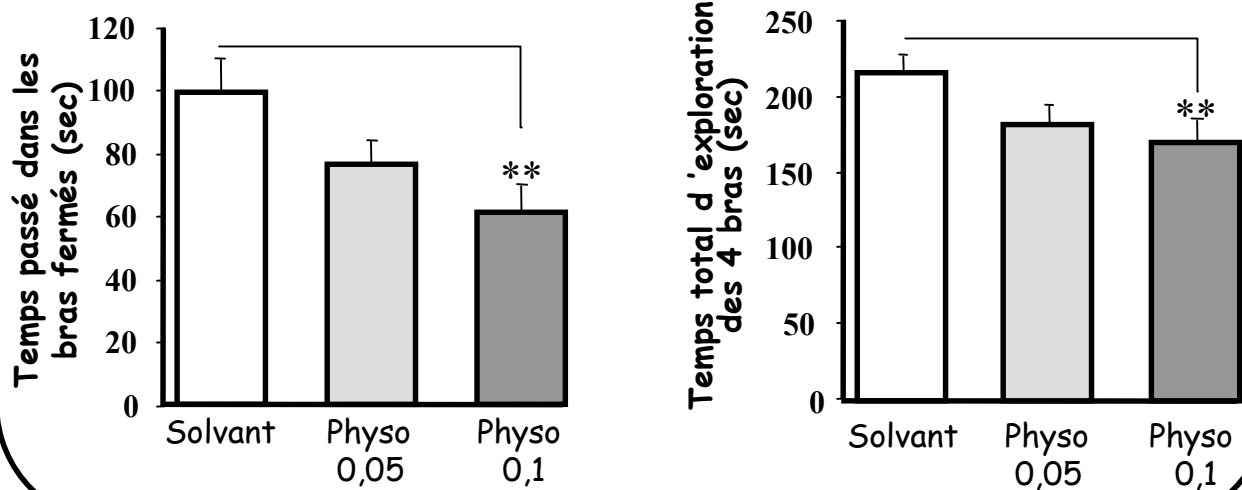


Figure V.7 : Effets de la Physostigmine sur l'activité exploratoire ou locomotrice évaluée dans le labyrinthe en croix surélevé.

Les résultats de la phase d'acquisition sont en tout point comparables aux résultats d'acquisition des souris jeunes adultes ou des souris de l'expérience BCCM et ne seront pas détaillés ici. Mais en résumé, on observe que l'apprentissage de la 2<sup>ème</sup> discrimination est influencé par celui de la 1<sup>ère</sup>. En effet, lors de l'apprentissage de la 2<sup>ème</sup> discrimination, le trou interférent (appâté lors de l'acquisition précédente) n'est plus neutre et il est plus fréquemment visité que les autres trous non appâtés, néanmoins, il reste moins visité que le trou appâté. En revanche, l'activité exploratoire des animaux n'est pas modifiée d'une acquisition à l'autre.

## 2. Rétention

### a. Effet de la physostigmine sur la réactivité émotionnelle mesurée en labyrinthe en croix surélevé (Cf. Figure V.7)

Parmi les différents paramètres mesurés, nous ne mentionnerons dans les analyses suivantes que ceux qui sont sensibles au traitement.

L'analyse globale révèle un effet significatif du traitement sur le temps passé dans les bras fermés ( $F(2,41) = 4.4$  ;  $p = 0.02$ ) et sur le temps total passé à explorer les 4 bras ( $F(2,41) = 4.6$  ;  $p = 0.015$ ). Plus précisément, les animaux Physo 0.1 passent significativement moins de temps dans les bras fermés que les animaux témoins ( $60.8 \pm 9.1$  sec versus  $99.2 \pm 10.5$  sec respectivement ;  $p = 0.005$ ). Les animaux Physo 0,05 ( $76.2 \pm 7.4$  sec) quant à eux ne diffèrent pas des témoins ( $p > 0.05$ ). Les animaux Physo 0.1 passent également moins de temps que les témoins à explorer les 4 bras ( $171.0 \pm 12.8$  sec et  $217.4 \pm 9.1$  sec respectivement;  $p = 0.005$ ) et par conséquent passent plus de temps immobiles sur la plate forme centrale. Les animaux Physo 0.05 ( $183.0 \pm 9.7$  sec) quant à eux ne diffèrent pas significativement des témoins.

**En résumé, la physostigmine ne semble pas avoir d'effet sur la réactivité**

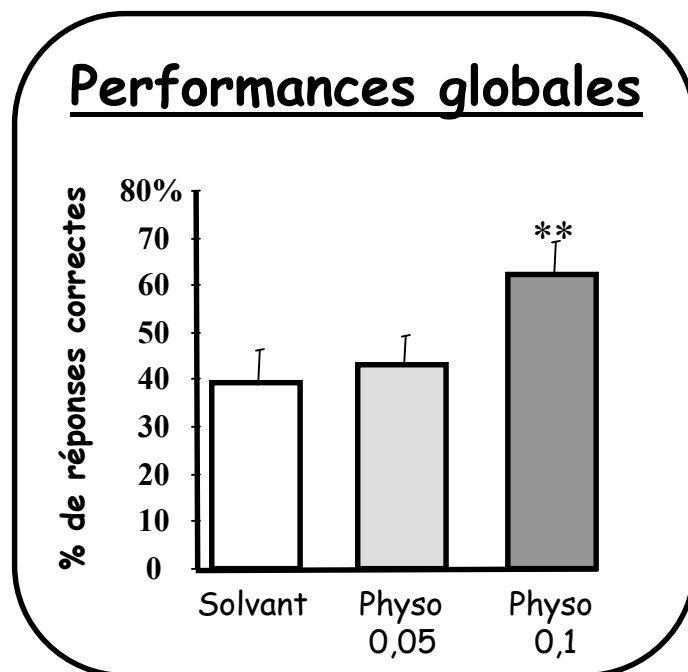


Figure V.8 : Effets de la Physostigmine sur les performances globales lors de l'essai de rétention

émotionnelle. Par contre la physostigmine affecterait de façon dose dépendante « la prise de décision » et/ou l'activité locomotrice globale des animaux : elle semble augmenter le temps de prise de décision et/ou réduire l'activité locomotrice à la dose de 0.1 mg/kg mais non à la dose de 0.05 mg/kg.

#### b. Effet de la Physostigmine sur la restitution mnésique

##### *i) Performances*

Cette analyse compare les performances globales observées lors de la restitution chez les souris solvant et les souris traitées à la Physostigmine (0.05 mg/kg et 0.1 mg/kg) dans les discriminations 1 et 2 regroupées (Cf. figure V.8).

L'analyse globale indique un effet significatif du traitement ( $F(2,41) = 3.6$  ;  $p = 0.035$ ) sur le pourcentage de réponses correctes. Plus exactement, la physostigmine à la dose de 0.1 mg/kg augmente significativement les performances par rapport aux animaux témoins ( $62.3 \pm 6.6\%$  de réponses correctes et  $39.3 \pm 6.9\%$  respectivement ;  $p = 0.01$ ). En revanche à la dose de 0.05 mg/kg, la physostigmine ne modifie pas les performances par rapport aux témoins ( $43.4 \pm 5.8\%$  ;  $p = 0.6$ ).

**En résumé, les données précédentes révèlent un effet dose dépendant de la Physostigmine sur la restitution mnésique : la dose de 0.1 mg/kg améliore significativement les performances alors que la dose de 0.05 mg/kg est sans effet sur la restitution.**

Dans la mesure où les résultats précédents révèlent l'absence d'effets mnésiques de la Physostigmine à 0,05 mg/kg, les analyses suivantes ne porteront que sur la Physostigmine à 0.1 mg/kg, qui accroît la reconnaissance des trous appâtés.

## Performances en fonction de la discrimination

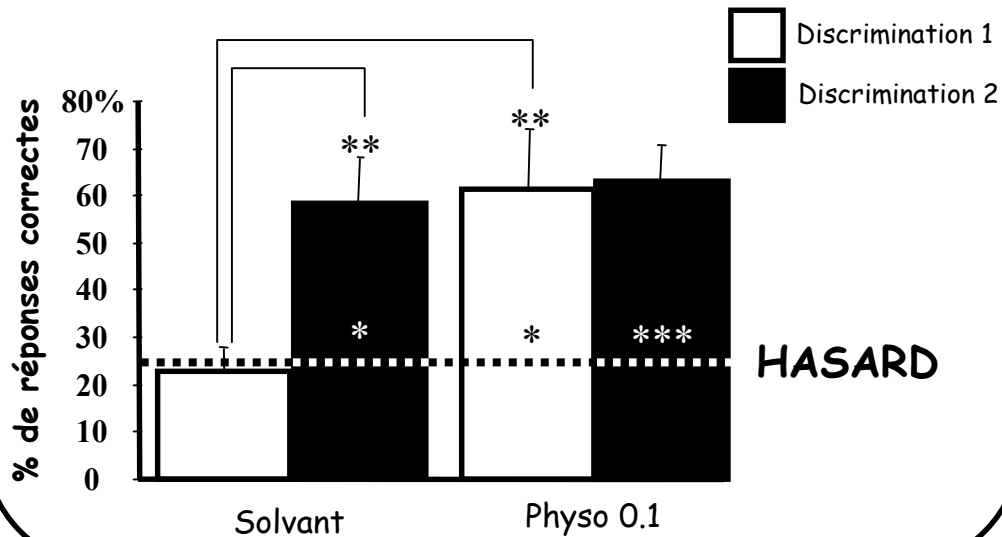


Figure V.9 : Effets de la Physostigmine (0.1 mg/kg) sur les performances en fonction de la discrimination

## Interférences

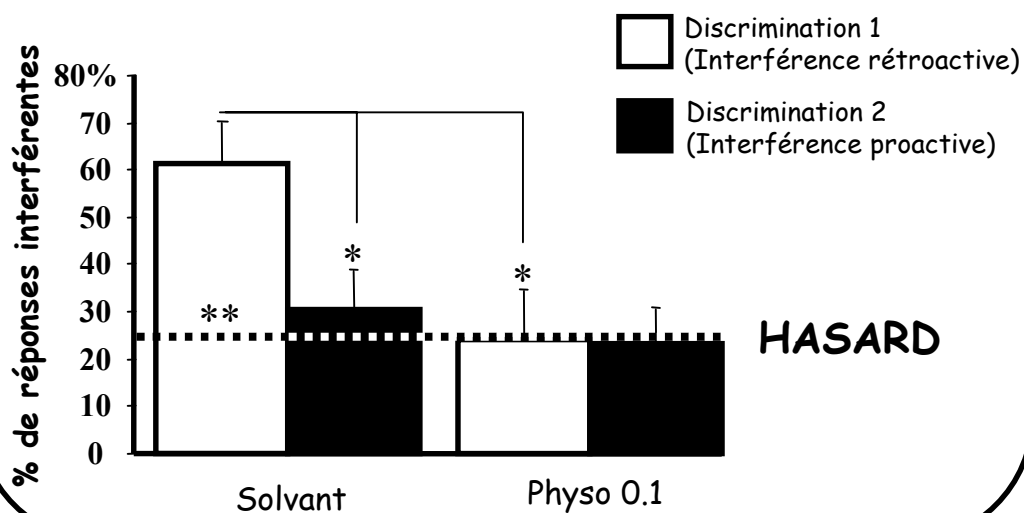


Figure V.10 : Effets de la Physo 0.1 sur le pourcentage d'interférences en fonction de la discrimination.

Nous avons voulu préciser l'effet du traitement avec la Physo 0.1 en fonction du type d'interférence (discrimination 1 ou interférence rétroactive versus discrimination 2 ou interférence proactive). (Cf. Figure V.9)

L'analyse globale indique un effet significatif du traitement ( $F(1, 24) = 6.1$  ;  $p = 0.02$ ) et du type d'interférence ( $F(1,24) = 4.5$  ;  $p = 0.045$ ). L'interaction est proche de la signification statistique ( $F(1,24) = 3.7$  ;  $p = 0.06$ ). Plus précisément, les animaux témoins réussissent significativement mieux la 2<sup>ème</sup> discrimination ( $58.5 \pm 9.3\%$  de réponses correctes) que la 1<sup>ère</sup> discrimination ( $23.1 \pm 4.4\%$  ;  $F(1,11) = 13.1$ ;  $p = 0.004$ ). De plus, les performances pour la 2<sup>ème</sup> discrimination sont significativement au-dessus du hasard ( $t = 3.59$  ;  $p = 0.015$ ) alors qu'elles sont au hasard pour la 1<sup>ère</sup> discrimination ( $t = -0.45$  ;  $p = 0.7$ ). L'injection de Physo 0.1 améliore significativement les performances par rapport aux témoins sur la 1<sup>ère</sup> discrimination ( $61.5 \pm 12.2\%$  de réponses correctes et  $23.1 \pm 4.4\%$  respectivement ;  $F(1,12) = 8.8$  ;  $p = 0.01$ ). De plus, chez les souris Physo 0.1, les performances sont significativement supérieures au hasard sur la 1<sup>ère</sup> discrimination ( $t = 3.0$  ;  $p = 0.02$ ) comme sur la 2<sup>ème</sup> ( $63.0 \pm 7.3\%$  de réponses correctes ;  $t = 5.2$  ;  $p = 0.001$ ).

### *ii) Analyse des erreurs*

Le pourcentage de réponses fausses est significativement inférieur au hasard quelle que soit la discrimination ( $p < 0.0008$  dans tous les cas) et n'est pas modifié par le traitement ( $F < 1.0$ ).

Une analyse portant sur le pourcentage de réponses interférentes (Cf. Figure V.10) révèle un effet significatif du traitement ( $F(1,24) = 6.8$  ;  $p = 0.015$ ). En revanche, il n'y a pas d'effet significatif du type d'interférence ( $F(1,24) = 3.5$  ;  $p = 0.07$ ) et l'interaction n'est pas significative ( $F(1,24) = 3.05$  ;  $p = 0.09$ ). Plus précisément, les animaux témoins expriment un pourcentage d'interférences

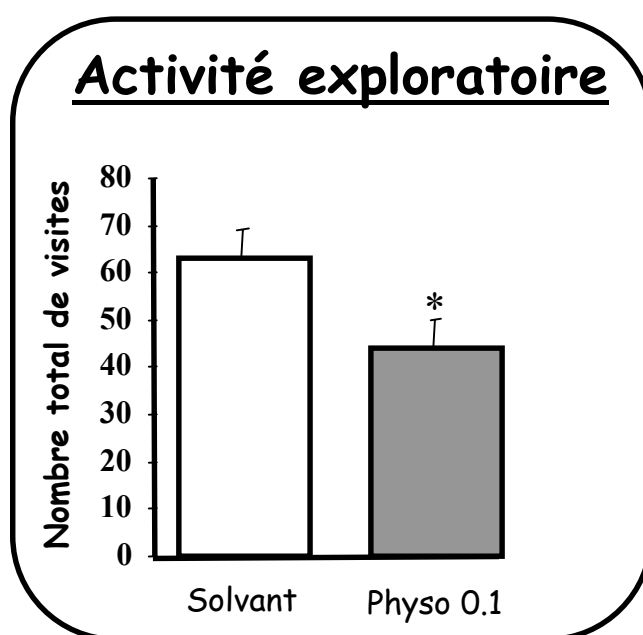


Figure V.11 : Effets de la Physo 0.1 sur l'activité exploratoire mesurée lors de l'essai de rétention



rétroactives significativement supérieur au hasard ( $t = 4.4$  ;  $p = 0.0045$ ) et significativement plus élevé que le pourcentage d'interférences proactives ( $F(1,11) = 7.0$  ;  $p = 0.02$ ). La Physo 0.1 réduit significativement le pourcentage d'interférence rétroactive par rapport aux témoins ( $24.3 \pm 9.9\%$  de réponses interférentes et  $61.4 \pm 8.3\%$  respectivement ;  $F(1,12) = 8.25$  ;  $p = 0.015$ ). En revanche, le pourcentage d'interférences proactives est au hasard chez les témoins ( $30.4 \pm 8.1\%$  ;  $t = 0.67$  ;  $p = 0.5$ ) et n'est pas modifié par l'injection de physo ( $23.1 \pm 7.4\%$  ;  $F < 1.0$ ).

*iii) Analyse de l'activité exploratoire lors de l'essai de rétention (Cf. Figure V.11)*

L'analyse globale du nombre total de visites dans les trous indique un effet significatif du traitement sur l'activité exploratoire des animaux ( $F(1,24) = 4.8$  ;  $p = 0.04$ ) mais ni l'effet du type d'interférence ( $F < 1.0$ ) ni l'interaction ( $F < 1.0$ ) ne sont significatifs. Plus précisément, l'administration de physostigmine réduit significativement l'activité exploratoire des animaux par rapport au traitement témoin ( $44.0 \pm 6.0$  et  $62.9 \pm 6.2$  visites totales respectivement ;  $p = 0.04$ ).

**En résumé, les données indiquent i) que les animaux témoins restituent mieux la 2<sup>ème</sup> discrimination que la 1<sup>ère</sup> pour laquelle les performances sont au hasard. ii) que ce faible pourcentage de réponses correctes lors de la discrimination 1 est associé à une interférence rétroactive forte iii) que la Physostigmine à la dose de 0.1 mg/kg améliore les performances sur la 1<sup>ère</sup> discrimination en réduisant l'interférence rétroactive iiiii) enfin, que la physostigmine réduit l'activité locomotrice et/ou perturbe la prise de décision dans le labyrinthe en croix surélevé et réduit l'activité exploratoire des animaux lors de l'essai de rétention.**

### III. EFFET DE L'INHIBITION DE LA SYNTHÈSE DE CORTICOSTERONE PAR LA METHYRAPONE SUR LA RESTITUTION DANS L'ÉPREUVE DE DSCS

Nous avons précisé dans le chapitre IV que le choc électrique délivré en phase pré test, 5 minutes avant l'essai de rétention, entraîne une activation significative de l'axe corticotrope concomitante des effets du stress sur les processus de restitution mnésique. Nous avons formulé l'hypothèse que l'augmentation de la concentration de corticostérone plasmatique chez les animaux choqués est en partie responsable des effets comportementaux observés (à savoir une perturbation de la restitution de la première discrimination accompagnée d'une amélioration de la restitution de la deuxième discrimination). Si cette hypothèse est vraie, alors en inhibant la sécrétion de corticostérone induite par le choc, on devrait observer des performances comportementales comparables à celles de souris non choquées.

Classiquement dans la littérature, la suppression des glucocorticoïdes endogènes est effectuée par ablation chirurgicale des deux glandes surrénales (surrénalectomie). Cependant, cette technique présente divers inconvénients:

- C'est une opération extrêmement traumatisante pour les animaux. Les souris meurent quelques jours après l'opération ou récupèrent très difficilement. Or nous effectuons des mesures comportementales qui nécessitent la parfaite intégrité des facultés physiques et du bien être des animaux.
- En enlevant les deux glandes surrénales, on supprime effectivement la corticosurrénale qui est la région de production de la corticostérone mais on supprime également la medullosurrénale où sont synthétisés diverses catécholamines (adrénaline et noradrénaline) et enképhalines. La

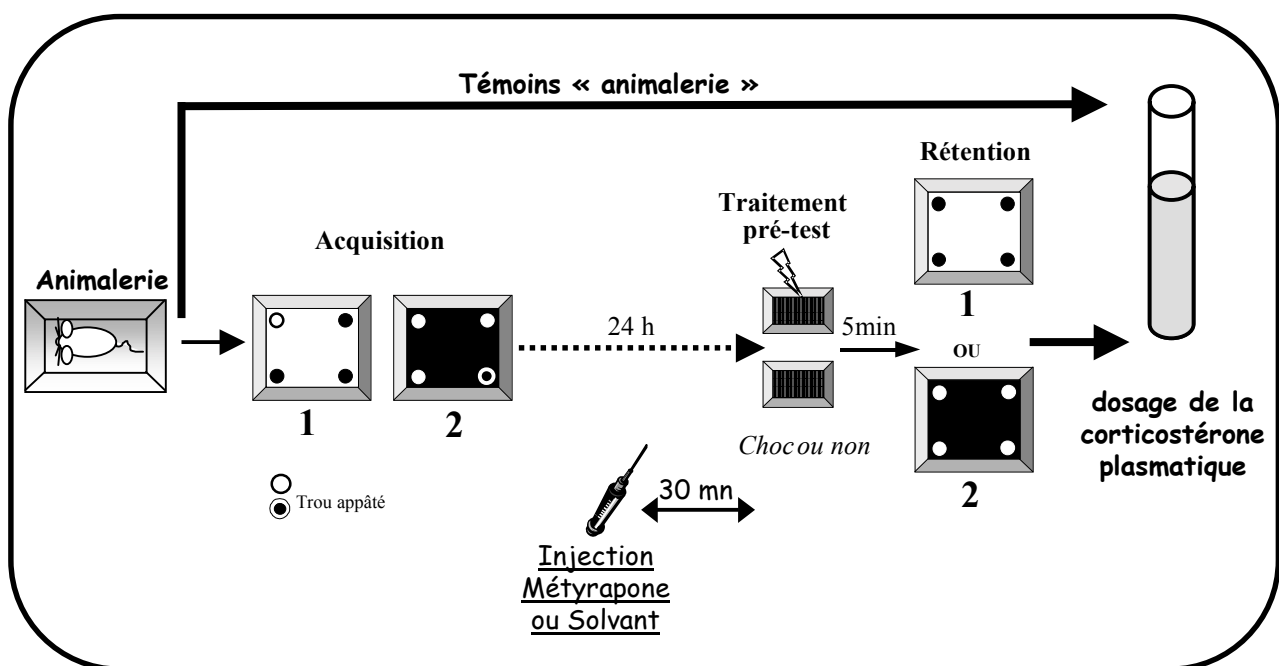


Figure V.12 : Procédure expérimentale permettant d'étudier les effets de l'inhibition de la synthèse de corticostérone par injection de métyrapone sur les modifications comportementales induites par le stress dans l'épreuve de DSCS

surrénalectomie ne permet donc pas de supprimer spécifiquement et exclusivement la sécrétion de corticostérone.

- Enfin la surrénalectomie abolit à la fois la sécrétion basale de corticostérone et la sécrétion induite par le stress.

Pour ces diverses raisons, nous avons opté pour une autre méthode d'inhibition de la sécrétion de corticostérone. Nous avons utilisé la métyrapone, un inhibiteur de la 11-beta-hydroxylase, qui bloque sélectivement la synthèse de corticostéroïdes chez l'homme comme chez l'animal (Sonino, 1982). Cette molécule inhibe la conversion de la désoxycorticostérone, précurseur de la corticostérone, dans le cortex surrénalien et empêche donc la synthèse et la libération de corticostérone dans la circulation sanguine. Une seule injection périphérique de métyrapone induit une inhibition temporaire de la synthèse de corticostérone (Roozendaal et al, 1996). De plus, un traitement à la métyrapone préserve la synthèse et la libération des molécules sécrétées par la medullosurrénale (catécholamines et enképhalines). Enfin, plusieurs expériences ont montré que la métyrapone n'affecte pas la concentration basale de corticostérone mais inhibe seulement l'augmentation de corticostérone induite par le stress (Roozendaal et al, 1996).

## **A. PROCEDURE EXPERIMENTALE**

### **1. Protocole** (Cf. Figure V.12)

Le déroulement de l'épreuve comportementale est identique à celui décrit précédemment : les animaux apprennent les 2 discriminations successivement. 23h30 après, ils reçoivent une injection intra-péritonéale de métyrapone (35 mg/kg) ou de solvant. 30 minutes après l'injection, ils sont soumis au traitement pré-test, durant lequel ils reçoivent ou non 3 chocs électriques successifs. Enfin,

5 minutes après le traitement pré-test, ils sont placés en essai de rétention portant soit sur la 1<sup>ère</sup> discrimination acquise, soit sur la 2<sup>ème</sup>.

A l'issue de l'essai de rétention, les animaux sont décapités et le sang est prélevé pour le dosage de la corticostérone plasmatique.

## 2. Constitution des groupes expérimentaux

Les animaux ont été répartis en 8 groupes :

TRAITEMENT	DISCRIMINATION	CONDITION	Effectifs et Noms
METYRAPONE	Discri 1 interférence rétroactive	CHOC	N = 9 : Mety/C1
		NON CHOC	N = 10 : Mety/NC1
	Discri 2 interférence proactive	CHOC	N = 10 : Mety/C2
		NON CHOC	N = 10 : Mety/NC2
SOLVANT	Discri 1 interférence rétroactive	CHOC	N = 7 : Solv/C1
		NON CHOC	N = 8 : Solv/NC1
	Discri 2 interférence proactive	CHOC	N = 10 : Solv/C2
		NON CHOC	N = 10 : Solv/NC2

Remarque : Afin d'éventuellement dissocier « l'effet solvant » de « l'effet piqûre », le groupe témoins solvant est à moitié constitué d'animaux piqués injectés et à moitié d'animaux piqués non injectés. Dans la mesure où l'analyse statistique ne montre aucune différence significative entre ces deux populations, leurs données ont été regroupées.

## B. RESULTATS

### 1. Acquisition.

Dans la mesure où les animaux ne sont répartis en différents groupes, en fonction du traitement (métyrapone versus solvant) et de la condition (choqués ou non choqués) qu'après l'acquisition, cette analyse porte sur l'ensemble des animaux de cette expérience (N=67).

Une analyse globale **ANOVA en mesures répétées** révèle un effet significatif de la nature des trous (appâté versus non appâtés :  $F(1,66) = 40.8$  ;  $p < 0.0001$ ).

En revanche, il n'y a aucun effet de la discrimination (discrimination 1 versus discrimination 2 :  $F(1,66) = 1.0$ ) et l'interaction «Nature des trous» X « Discrimination » n'est pas significative non plus ( $F(1,66) < 1.0$ ). En d'autres termes, les animaux visitent plus fréquemment le trou appâté que les 3 trous non appâtés réunis, quelque soit la discrimination (Pour la discrimination 1, le pourcentage de visite du trou appâté est  $63.6 \pm 3.6\%$  et le pourcentage de visite des 3 trous non appâtés réunis est  $36.4 \pm 3.6\%$ ; Pour la discrimination 2, le pourcentage de visite du trou appâté est  $63.8 \pm 2.4\%$  et le pourcentage de visite des 3 trous non appâtés réunis est  $36.2 \pm 2.4\%$ ). Si on analyse plus précisément la répartition des visites des 3 trous non appâtés lors de l'apprentissage de la seconde discrimination, on voit apparaître un effet significatif de la nature des trous non appâtés ( les 2 trous faux (c'est à dire jamais appâtés) versus le trou interférent (c'est à dire appâté lors de l'acquisition de la discrimination précédente):  $F(2,66) = 12.18$ ;  $p < 0.0001$ ). En d'autres termes lors de l'apprentissage de la seconde discrimination, les animaux visitent plus fréquemment le trou interférent non appâté ( $17.1 \pm 1.7\%$  de visites) que chacun des deux trous faux ( $9.9 \pm 1.0\%$  et  $9.3 \pm 1.0\%$  respectivement).

L'analyse des fréquences totales de visite des trous indique qu'il n'y a aucune différence d'activité exploratoire entre l'acquisition de la première discrimination et celle de la seconde (  $38.9 \pm 2.2$  et  $37.8 \pm 2.5$  visites totales respectivement ;  $F < 1.0$ ).

**En résumé, les résultats de la phase d'acquisition indiquent que l'apprentissage de la 2<sup>ème</sup> discrimination est influencé par celui de la 1<sup>ère</sup>. En effet, lors de l'apprentissage de la 2<sup>ème</sup> discrimination, le trou interférent (appâté lors de l'acquisition précédente) n'est plus neutre et il est plus fréquemment visité que les autres trous non appâtés, néanmoins, il**

reste moins visité que le trou appâté. En revanche, l'activité exploratoire des animaux n'est pas modifiée d'une acquisition à l'autre. Ces résultats sont conformes à ceux décrits antérieurement.

## 2. Rétention

### a. Activité exploratoire

L'analyse globale indique que l'activité exploratoire des animaux n'est affectée ni par le choc ( $F < 1.0$ ), ni par le traitement ( $F < 1.0$ ). En revanche le type d'interférence a un effet sur l'activité exploratoire ( $F(1,66) = 5.9$  ;  $p = 0.02$ ) qui s'explique par le fait que les animaux explorent globalement davantage sur la seconde discrimination que sur la première. Les interactions ne sont pas significatives ( $P > 1.0$  dans tous les cas).

### b. Concentration de corticostérone plasmatique et performances

TRAITEMENT	DISCRIMINATION	CONDITION	MOYENNES		Comparaison par rapport au hasard
			[Cort] ( $\mu\text{g}/\text{dl}$ )	Performances (% réponses correctes)	
METYRAPONE	Discri 1 (rétroactive)	C	5.65 ± 0.8	42.8 ± 7.6	p = 0.045
		NC	7.3 ± 0.7	22.2 ± 6.8	p = 0.7
	Discri 2 (proactive)	C	6.5 ± 0.6	33.5 ± 5.7	p = 0.17
		NC	8.4 ± 1.0	63.1 ± 5.7	p < 0.0001
SOLVANT	Discri 1 (rétroactive)	C	14.85 ± 2.4	33.6 ± 6.5	p = 0.2
		NC	12.5 ± 2.3	20.5 ± 7.2	p = 0.55
	Discri 2 (proactive)	C	24.5 ± 2.1	57.2 ± 6.6	p = 0.0009
		NC	15.9 ± 1.4	41.4 ± 6.7	p = 0.03

L'analyse globale ANOVA factorielle portant sur la concentration de corticostérone plasmatique indique un effet significatif du traitement ( $F(1,66)=90.64$  ;  $p < 0.0001$ ) et de la discrimination ( $F(1,66)=12.7$  ;  $p = 0.0007$ ). L'interaction Traitement X Condition est significative ( $F(1,66)=12.0$  ;  $p = 0.0009$ )

ainsi que l'interaction Traitement X Discrimination ( $F(1,66)=7.03$  ;  $p=0.01$ ).

L'analyse globale ANOVA factorielle portant sur les performances indique un effet significatif de la discrimination ( $F(1,66) = 16.28$ ,  $p < 0.0001$ ). L'interaction Discrimination X Condition est significative ( $F(1,66) = 6.35$  ;  $p = 0.01$ ), ainsi que l'interaction Traitement X Condition ( $F(1,66) = 4.05$  ;  $p = 0.04$ ) et la triple interaction Traitement X Discrimination X Condition ( $F(1,66) = 7.8$  ;  $p = 0.007$ ). En d'autres termes, l'effet du choc varie selon la discrimination réalisée et selon le traitement administré.

### *i) Effets du traitement*

#### ♦ En conditions normales (sans choc électrique)

Chez les animaux placés en situation d'interférence rétroactive, l'administration de métyrapone réduit significativement la concentration de corticostérone plasmatique ( $7.3 \pm 0.7 \mu\text{g/dl}$ ) par rapport aux animaux injectés au solvant ( $12.5 \pm 2.3 \mu\text{g/dl}$  ;  $p = 0.03$ ). Par contre, pour ce qui concerne les performances mnésiques, le traitement est sans effet significatif ( $F < 1.0$ ) et les performances sont au hasard pour les animaux traités à la métyrapone ( $t = -0.41$  ;  $p = 0.7$ ) comme pour le groupe solvant ( $t = -0.6$  ;  $p = 0.55$ ). Chez les animaux placés en situation d'interférence proactive, l'administration de métyrapone réduit significativement la concentration de corticostérone plasmatique ( $8.4 \pm 1.0 \mu\text{g/dl}$ ) par rapport au groupe solvant ( $15.9 \pm 1.4 \mu\text{g/dl}$  ;  $p = 0.03$ ). De plus, on observe un effet significatif du traitement ( $F(1,18) = 0.02$ ) sur les performances. En effet, les animaux traités à la métyrapone présentent des performances significativement meilleures ( $63,1 \pm 5.7\%$  de réponses correctes) que leurs témoins ( $41.4 \pm 6.7\%$ ). Les performances des deux groupes sont significativement au-dessus du hasard ( $t = 6.7$  ;  $p < 0.0001$  pour le groupe métyrapone et  $t = 2.45$  ;  $p = 0.03$  pour le groupe solvant).



♦ **En conditions de stress** (avec le choc électrique),

Chez les animaux placés en situation d'interférence rétroactive, l'administration de metyrapone réduit significativement la concentration de corticostérone plasmatique ( $5.65 \pm 0.8 \mu\text{g/dl}$ ) par rapport au groupe solvant ( $14.85 \pm 2.4 \mu\text{g/dl}$ ;  $p = 0.001$ ). Par contre, le traitement n'a pas d'effet significatif sur les performances ( $F < 1.0$ ). Il est cependant intéressant de noter que les animaux traités à la métyrapone ont des performances supérieures au hasard ( $t = 2.35$ ;  $p = 0.045$ ), ce qui n'est pas le cas des témoins solvant ( $t = 1.3$ ;  $p = 0.2$ ). Chez les animaux placés en situation d'interférence proactive, la metyrapone réduit significativement la concentration de corticostérone plasmatique ( $6,5 \pm 0.6 \mu\text{g/dl}$ ) par rapport au groupe solvant ( $24.5 \pm 2.1 \mu\text{g/dl}$ ;  $p < 0.0001$ ). De plus, l'effet du traitement sur les performances mnésiques est significatif ( $F(1,18) = 7.37$ ;  $p = 0.01$ ). Effectivement, le traitement à la metyrapone réduit significativement les performances pour les mettre au niveau du hasard ( $33.5 \pm 5.7\%$  de réponses correctes;  $t = 1.5$ ;  $p = 0.17$ ) par rapport au groupe témoin dont les performances sont significativement supérieures au hasard ( $57.2 \pm 6.6$ ;  $t = 4.9$ ;  $p = 0.0009$ ).

**Ce 1<sup>er</sup> volet d'analyses montre i) que la metyrapone inhibe efficacement la synthèse de corticostérone ii) que l'inhibition de la synthèse de corticostérone n'affecte pas (ou peu) la restitution mnésique lorsque les animaux sont placés en situation d'interférence rétroactive (c'est à dire évoque la première discrimination) quelles que soient les conditions de stress infligées à l'animal. En revanche, lorsque les animaux sont placés en situation d'interférence proactive (c'est à dire évoquent la seconde discrimination), l'inhibition de la synthèse de corticostérone à des répercussions sur la restitution mnésique. La direction de ces répercussions dépend des conditions de stress infligées à l'animal : la metyrapone améliore la**

restitution dans les conditions sans stress alors qu'elle perturbe la restitution lorsque les animaux ont reçu un choc électrique

*ii) Effets du choc*

♦ Pour le groupe solvant

En situation d'interférence rétroactive, (c'est à dire rappel de la première discrimination) le choc électrique n'a pas d'effet significatif ni sur la concentration de corticostérone plasmatique ( $p = 0.5$ ), ni sur les performances ( $p = 0.2$ ) qui sont au hasard que les animaux soient choqués ( $33.6 \pm 6.5\%$  de réponses correctes ;  $p = 0.7$ ) ou non ( $20.5 \pm 7.2\%$  ;  $p = 0.5$ ). En situation d'interférence proactive (rappel de la seconde discrimination), le choc augmente significativement la concentration de corticostérone plasmatique ( $F(1,18) = 11.32$  ;  $p = 0.0035$ ) mais n'affecte pas significativement les performances ( $F(1,18) = 2.8$  ;  $p = 0.1$ ) qui restent significativement supérieures au hasard que les animaux soient choqués ( $p = 0.0009$ ) ou non ( $p = 0.03$ ).

♦ Pour le groupe metyrapone

En situation d'interférence rétroactive, le choc n'a pas d'effet sur la concentration de corticostérone plasmatique ( $F(1,17) = 2.6$  ;  $p = 0.1$ ). L'effet du choc sur les performances est proche de la signification statistique ( $F(1,17) = 4.11$  ;  $p = 0.05$ ), de plus les performances des animaux choqués ( $42.8 \pm 7.6\%$  de réponses correctes) sont significativement supérieures au hasard ( $p = 0.045$ ), ce qui n'est pas le cas des animaux non choqués ( $22.2 \pm 6.8\%$  de réponses correctes ;  $p = 0.7$ ). En situation d'interférence proactive, le choc n'a pas d'effet sur la concentration de corticostérone circulante ( $F(1,18) = 2.85$  ;  $p = 0.1$ ). Par contre, le choc réduit significativement le pourcentage de réponses correctes ( $p = 0.002$ ) qui est alors au niveau du hasard ( $p = 0.17$ ) alors qu'il est significativement supérieur au hasard chez les animaux non choqués ( $p < 0.0001$ ).

Ce second volet d'analyses montrent i) que le choc électrique n'augmente la concentration de corticostérone circulante que chez les animaux solvant en situation d'interférence proactive, la corticostéronémie des animaux solvant en situation d'interférence rétroactive quant à elle ne semble pas être affectée par le choc électrique ii) que le choc n'a aucun effet sur la restitution mnésique des animaux solvant qui est mauvaise et le reste en situation d'interférence rétroactive et qui est bonne et le reste en situation d'interférence proactive iii) que chez les animaux traités avec la metyrapone, le choc n'a aucun effet sur la concentration de corticostérone plasmatique iii) et que dans ce même groupe, le choc améliore la restitution en situation d'interférence rétroactive alors qu'il la perturbe en situation d'interférence proactive.

### iii) Effets du type d'interférence

#### ♦ Dans des conditions normales (sans choc électrique)

Les animaux du groupe solvant présentent une concentration de corticostérone plasmatique comparable pour les deux discriminations ( $F(1,16) = 1.7$  ;  $p = 0.2$ ). Les performances sont significativement meilleures sur la 2<sup>ème</sup> discrimination que sur la 1<sup>ère</sup> ( $F(1,16) = 0.049$ ). De plus, le pourcentage de réponses correctes est significativement supérieur au hasard dans le cas de la 2<sup>ème</sup> discrimination ( $p=0.03$ ) alors qu'il est au niveau du hasard dans le cas de la 1<sup>ère</sup> ( $p=0.5$ ). Les animaux traités à la métyrapone présentent une concentration de corticostérone circulante comparable pour les 2 discriminations ( $F<1.0$ ). Les performances sont significativement meilleures sur la 2<sup>ème</sup> discrimination que sur la 1<sup>ère</sup> ( $F(1,18) = 21.3$  ;  $p = 0.0002$ ), avec un pourcentage de réponses correctes supérieur au hasard dans le cas de la 2<sup>ème</sup> discrimination ( $p<0.0001$ ) et des performances au hasard dans le cas de la 1<sup>ère</sup> ( $p=0.7$ ).

Effet de l'injection de metyrapone sur la concentration de corticostérone plasmatique

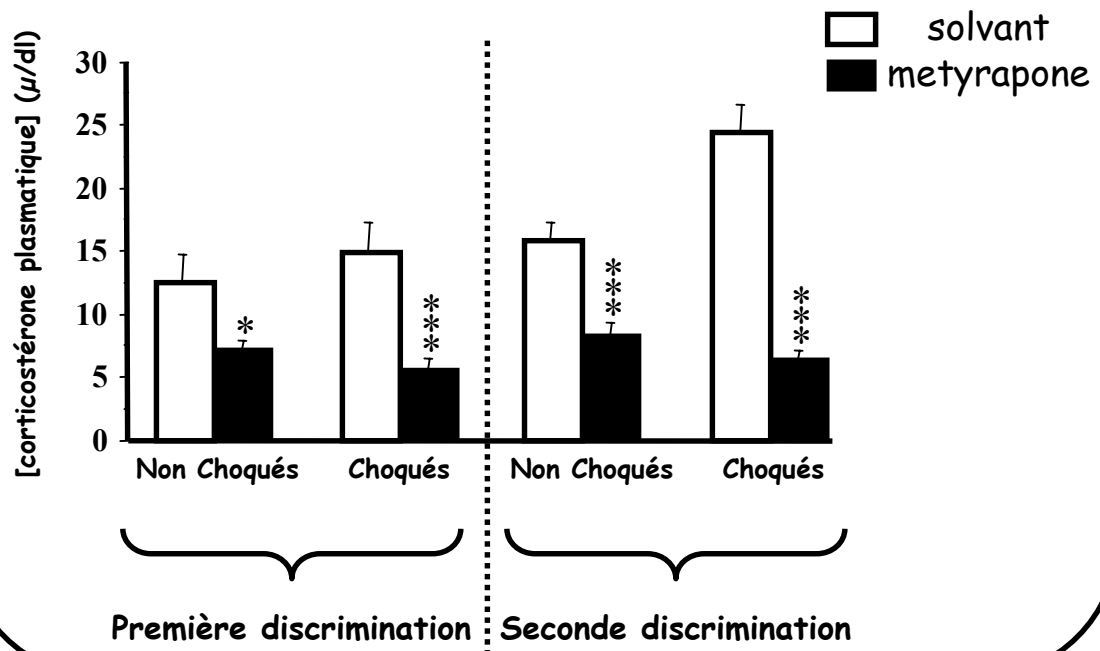


Figure V.13 : Effet de l'injection de metyrapone sur la concentration de corticostérone plasmatique

♦ En condition de stress,

les animaux du groupe solvant libèrent significativement plus de corticostérone lorsqu'ils restituent la 2<sup>ème</sup> discrimination que lorsqu'ils restituent la 1<sup>ère</sup> ( $F(1,15) = 8.9$  ;  $p = 0.009$ ). Concernant les performances, les résultats montrent que les animaux restituent significativement mieux la 2<sup>ème</sup> que la 1<sup>ère</sup> discrimination ( $F(1,15) = 6.0$  ;  $p = 0.025$ ) avec des performances supérieures au hasard pour la 2<sup>ème</sup> ( $p = 0.0009$ ) et des performances au hasard pour la 1<sup>ère</sup> ( $p=0.7$ ). Les animaux du groupe métyrapone ne présentent aucune différence de corticostéronémie pour chacune des deux discriminations ( $F<1.0$ ) et leurs performances ne sont pas différentes non plus ( $F<1.0$ ). A noter toutefois, que le pourcentage de réponses correctes est supérieur au hasard pour la 1<sup>ère</sup> discrimination ( $p=0.04$ ) alors qu'il ne l'est pas pour la 2<sup>ème</sup> (0.17).

Ce 3<sup>ème</sup> volet d'analyses montre i) que la concentration de corticostérone n'est augmentée qu'en situation d'interférence proactive (rappel de la deuxième discrimination) en condition de stress chez les animaux solvant. En conditions normales ou chez le groupe métyrapone, la corticostéronémie n'est pas modifiée par le type d'interférence ii) que les performances sont toujours significativement meilleures sur la 2<sup>ème</sup> discrimination que sur la 1<sup>ère</sup> chez les animaux solvant, quelles que soient les conditions de stress dans lesquelles ils se trouvent iii) que les animaux traités à la métyrapone restituent mieux la 2<sup>ème</sup> discrimination en condition normale alors qu'ils restituent mieux la 1<sup>ère</sup> discrimination en condition de stress.

Les résultats essentiels de ces trois volets d'analyses sont les suivants :

Du point de vue endocrinien (Cf. Figure V.13), la métyrapone réduit significativement la concentration de corticostérone plasmatique chez tous

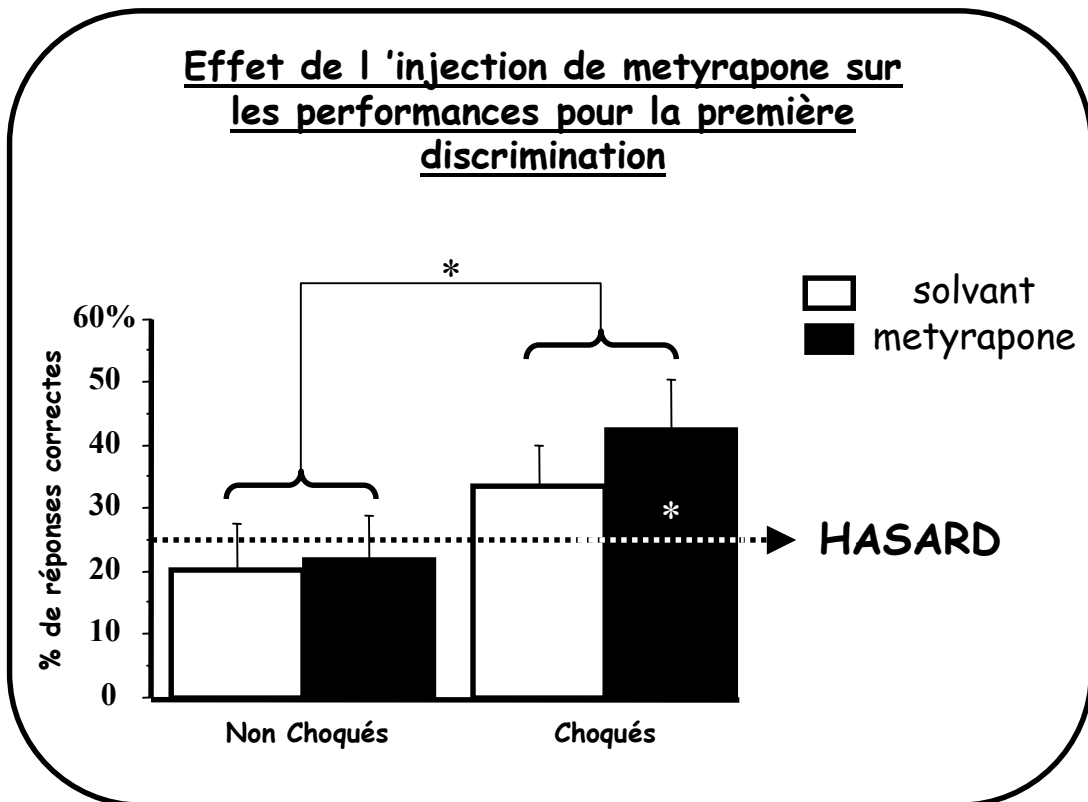


Figure V.14 : Effet de l'injection de metyrapone sur le pourcentage de réponses correctes en fonction du choc pour la première discrimination.

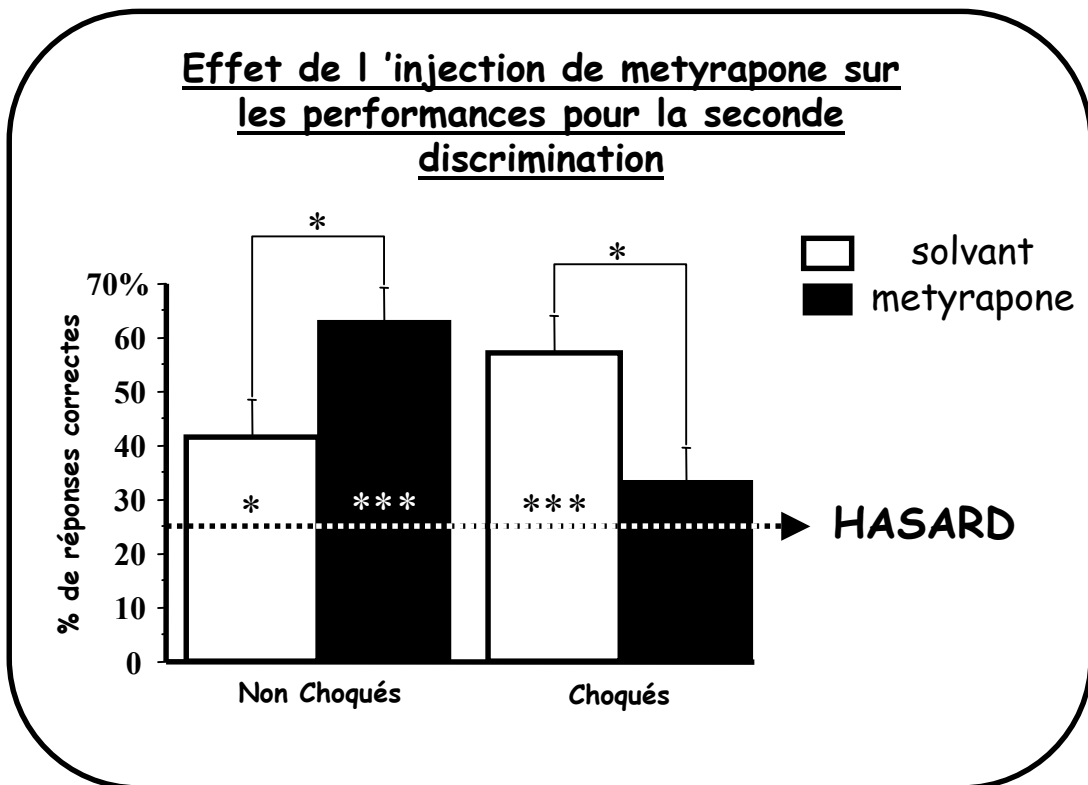


Figure V.15 : Effet de l'injection de metyrapone sur le pourcentage de réponses correctes en fonction du choc pour la seconde discrimination.

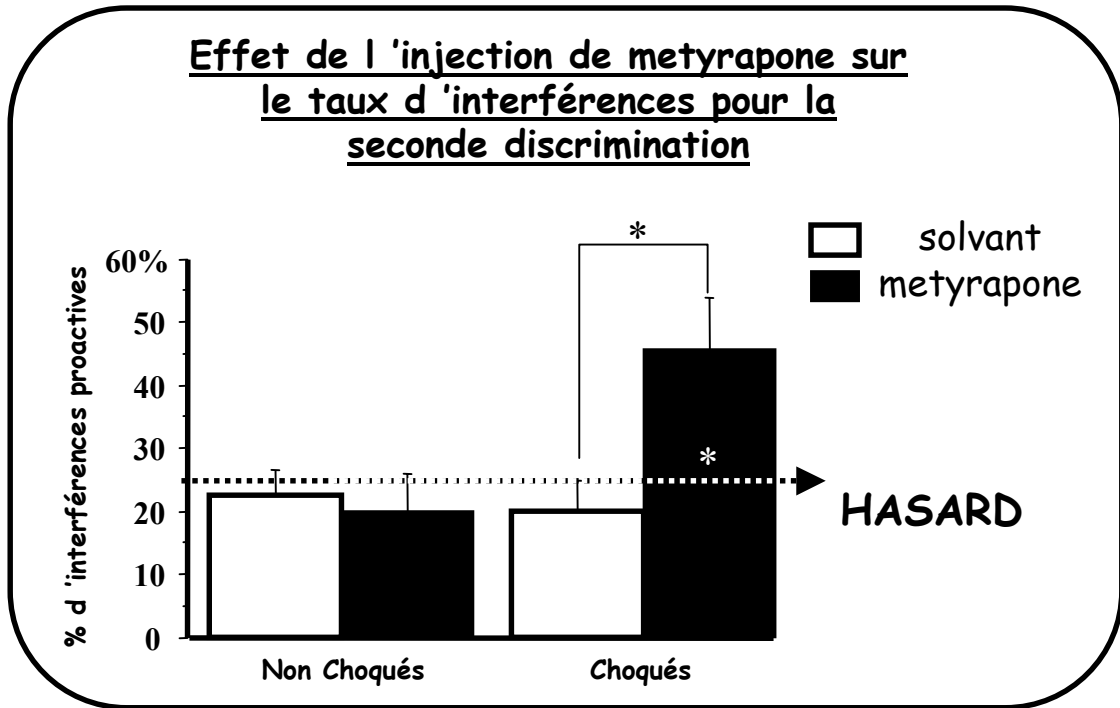


Figure V.16 :Effet de l'injection de metyrapone sur le pourcentage d'interférences proactives en fonction du choc pour la seconde discrimination.

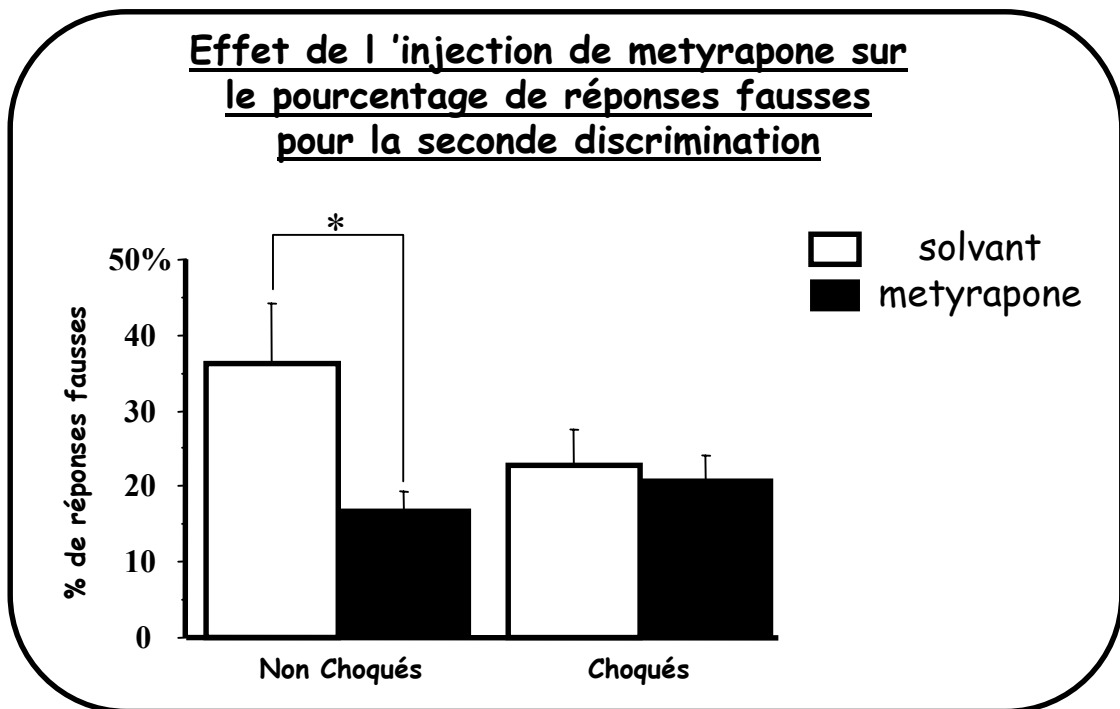


Figure V.17 :Effet de l'injection de metyrapone sur le pourcentage de réponses fausses en fonction du choc pour la seconde discrimination.

les animaux, quelle que soit la discrimination et qu'ils soient choqués ou non.

Du point de vue comportemental, la métyrapone n'a pas les mêmes effets selon que les animaux réalisent la première ou la seconde discrimination. La métyrapone n'a pas d'effet sur la restitution de la première discrimination (Cf. Figure V.14). En revanche, la métyrapone modifie les performances lorsque les animaux restituent la seconde discrimination (Cf. Figure V.15). La métyrapone améliore les performances et réduit le pourcentage de réponses fausses ( $F(1,18) = 5.2$  ;  $p = 0.03$ ) des animaux non choqués (Cf. Figure V.17) alors qu'elle perturbe la restitution et accroît le pourcentage d'interférences proactives ( $F(1,18) = 7.6$  ;  $p = 0.015$ ) des animaux choqués (Cf. Figure V.16).

## IV. DISCUSSION

A l'issue de ces trois études pharmacologiques, il apparaît clairement que l'épreuve mise au point est sensible à différents agents pharmacologiques connus pour agir sur les processus mnésiques et/ou émotionnels. Ces résultats fournissent donc une validation pharmacologique à notre protocole et confirment sa pertinence pour l'étude des interactions entre mémoire et émotions sur la phase de restitution mnésique.

### A. « EFFET PIQURE »

Il apparaît clairement que les témoins solvants de ces trois expériences ne répondent pas comme les animaux normaux non choqués des expériences décrites dans le chapitre IV. En effet, alors que ces derniers restituent mieux la première discrimination que la seconde, présentent un taux important d'interférences proactives et un taux faible d'interférences rétroactives, les animaux témoins solvant des expériences pharmacologiques, à l'inverse,



restituent mieux la seconde discrimination que la première, présentent un taux important d'interférences rétroactives et un taux faible d'interférences proactives. Leur profil comportemental est donc comparable à celui des animaux choqués des expériences décrites dans le chapitre IV. Les deux dernières expériences de ce chapitre nous ont permis de déterminer que le profil comportemental des souris témoins solvant est lié à la piqûre et non à l'injection du solvant proprement dite puisque les animaux piqués injectés réagissent comme les animaux piqués non injectés. Finalement, ces résultats montrent que le choc électrique ou la piqûre modulent de façon comparable la restitution mnésique. Effectivement, certaines études immunohistochimiques révèlent que l'injection IP de solvant induit l'expression de la protéine Fos dans certaines structures impliquées dans la réponse au stress, comme notamment le PVN, de façon comparable à d'autres stimulations stressantes (Sharp et al, 1991). Nos résultats suggèrent que les processus déclenchés par ces deux types de stress (choc et piqûre) sont identiques, et donc non spécifiques de telle ou telle forme de stress. Cela dit, le choc comme la piqûre appartiennent à la même catégorie de stress, ce sont des stimuli physiques et il est possible qu'un stress psychologique, l'exposition à un prédateur par exemple ne produirait pas le même effet. Quoiqu'il en soit, la nature aspécifique des processus mis en jeu suggèrent fortement l'implication de l'axe corticotrope dans la modulation de la réponse comportementale. L'existence de cet « effet piqûre » soulève un certains nombres de problèmes. Le premier problème concerne nos expériences pharmacologiques, dans lesquelles nous ne pouvons évaluer l'effet des différents traitements que par comparaison avec les témoins solvants et la discussion par rapport aux animaux normaux non piqués s'en trouvera limitée. En effet, dans la mesure où nous n'avons pas évalué l'effet des différents traitements pharmacologiques dans la procédure « sans variation de contexte »,

il nous est impossible de savoir si l'effet de la piqûre est contexte-dépendant comme c'est le cas pour l'effet du choc électrique. Le second problème se pose par rapport à l'expérimentation en général qui utilise régulièrement l'outil pharmacologique pour comprendre le fonctionnement normal de l'individu. Nos résultats indiquent que dans certaines situations (au moins la nôtre) les témoins ne réagissent pas forcément comme des animaux normaux et que des paramètres méthodologiques artéfactuels, qu'il faudrait prendre en compte, sont parfois responsables d'une partie des résultats obtenus. De plus, ces données confirment l'importance de la pertinence du choix du ou des groupes témoins.

## **B. EFFETS DE LA $\beta$ CCM ET DE LA PHYSOSTIGMINE**

La  $\beta$ CCM et la physostigmine ont un effet promnésiant dose dépendant sur les performances de la première discrimination. Cet effet s'exerce par l'intermédiaire d'une réduction de l'interférence rétroactive. En revanche ces deux agents pharmacologiques sont sans effet sur les performances de la seconde discrimination qui restent élevées avec une interférence proactive faible. L'absence d'effet sur cette seconde discrimination peut être liée à un effet « plafond », les témoins présentent en effet des performances élevées (environ 60% de réponses correctes). Un argument en faveur de cette interprétation est l'augmentation non significative des performances qui atteignent alors environ 70 % de réponses correctes, après traitement par les deux agents pharmacologiques. L'effet promnésiant de la  $\beta$ CCM est positivement corrélé à son effet anxiogène alors que l'effet de la physostigmine est strictement mnésique. Cette corrélation suggère une interdépendance entre processus mnésiques et processus émotionnels qui rappelle l'effet du choc électrique sur la restitution mnésique, même si les profils comportementaux sont différents du fait de « l'effet piqûre ». Cela dit, il est tout à fait possible que la

$\beta$ CCM exerce un effet indirect sur la transmission cholinergique (Sarter et al, 1988, 1990 ; Moore et al, 1993). En effet, la  $\beta$ CCM, agoniste inverse des récepteurs GABA réduit la conductance aux ions chlore et donc la transmission inhibitrice Gabaergique, de ce fait, les autres systèmes de neurotransmission notamment la voie cholinergique sont moins inhibés et libèrent plus de neurotransmetteurs. Selon Sarter et al (1990), la désinhibition du contrôle inhibiteur gabaergique sur l'activité cholinergique augmenterait l'activité cholinergique présynaptique au niveau cortical, améliorant ainsi les processus cognitifs. Or, lorsqu'on augmente la quantité d'acétylcholine dans la synapse en inhibant la cholinestérase donc la dégradation du neurotransmetteur, par l'utilisation de physostigmine, on obtient les mêmes résultats comportementaux qu'avec l'injection de  $\beta$ CCM. Nos données ne permettent pas de déterminer précisément si les effets des deux molécules sur la restitution mnésique s'exercent par l'intermédiaire de 2 processus bien distincts (un effet propre de la  $\beta$ CCM et un effet propre de la physostigmine) ou s'ils mettent en jeu un processus commun (activation de la transmission cholinergique). Cependant, la corrélation positive entre l'effet anxiogène et l'effet mnésique de la  $\beta$ CCM plaide davantage en faveur d'un effet spécifique de cette molécule, indépendant de la transmission cholinergique, et relatif à son effet sur la réactivité émotionnelle. Nos données ne permettent pas non plus de déterminer les voies de signalisation responsables de la médiation des effets comportementaux, dans la mesure où les traitements sont pratiqués par injection intrapéritonéale et ne ciblent pas préférentiellement un système cérébral particulier. L'approche systémique que nous avons utilisée était indispensable en première approximation, puisque aucune donnée pharmacologique relative à notre modèle comportemental n'était disponible. Cependant, maintenant qu'une étude globale a permis de déterminer que certains neurotransmetteurs comme le GABA ou

l'acétylcholine jouent un rôle dans la restitution de cette épreuve, il est possible d'envisager pour le futur une étude ciblant préférentiellement telle ou telle voie Gabaergique ou Cholinergique. Ainsi, pour étudier particulièrement la voie septo-hippocampique cholinergique, voie particulièrement étudiée lorsqu'on s'intéresse aux processus mnésiques, et la modulation Gabaergique de cette voie, on peut envisager l'administration intra-septale ou intra-hippocampique d'agents pharmacologiques. Les souris normales non choqués des expériences du chapitre IV présentent un taux important d'interférence proactive. Les souris choqués de ces même expériences présentent un taux important d'interférence rétroactive de même que les souris témoins solvant des expériences pharmacologiques décrites dans ce chapitre. Autrement dit, il semble que la mémorisation d'une des deux discriminations entraîne ipso facto l'oubli ou la difficulté à restituer la seconde, par excès d'interférence. Or, ce phénomène d'inhibition réciproque n'existe pas chez les souris ayant reçu un traitement pharmacologique ( $\beta$ CCM ou physostigmine), et elles présentent dans les deux cas une résistance à l'interférence. Finalement, nos données permettent de conclure à une implication des neurotransmissions Gabaergique et Cholinergique dans les processus de restitution mnésique spécifiquement et indépendamment de l'acquisition et de la rétention. De plus, il semble que ces deux voies soient particulièrement impliquées dans la gestion des informations interférentes.

### **C. EFFET DE LA METYRAPONE**

Le dosage de la corticostérone plasmatique révèle que la dose de métyrapone que nous avons utilisée inhibe efficacement la synthèse de corticostérone. Cependant, même lorsque la synthèse de corticostérone est inhibée par la métyrapone, la concentration de corticostérone ne descend pas en dessous d'un certain seuil (environ 6  $\mu$ g/dl), valeur légèrement supérieure aux concentrations

relevées chez les témoins animalerie (environ 3  $\mu\text{g}/\text{dl}$ ) mais équivalente à celles relevées chez les animaux non choqués (Cf. étude endocrinienne du chapitre IV). Ces résultats confirment que la métyrapone inhibe seulement la sécrétion de corticostérone induite par le stress sans en modifier le niveau basal.

A l'issue de l'étude endocrinienne décrite dans le chapitre IV, nous avons formulé l'hypothèse suivante : l'augmentation de la sécrétion de corticostérone induite par le stress pourrait, par l'intermédiaire des récepteurs centraux à la corticostérone et notamment ceux présents au niveau des structures cérébrales impliquées dans les processus mnésiques (hippocampe, amygdale....) être responsable des effets comportementaux observés sur la restitution mnésique. Ainsi, en inhibant la sécrétion de corticostérone induite par le choc, on devrait observer, chez des souris choquées, des performances comportementales comparables à celles de souris non choquées. Les résultats que nous obtenons ne permettent pas de conclure aussi clairement, essentiellement en raison des groupes Témoins solvant. En effet, « l'effet piqûre » décrit précédemment est particulièrement handicapant pour la compréhension de cette dernière expérience. La piqûre active l'axe corticotrope, de même que le choc électrique. Même si la résultante de ces deux activations successives n'est pas la somme algébrique des deux augmentations de la concentration de corticostérone plasmatique (mécanismes de rétrocontrôle) il est évident qu'au moment de la restitution, les animaux témoins solvants ne sont pas dans le même état interne endocrinien que les animaux non piqués (choqués ou non choqués) de l'expérience décrite dans le chapitre IV. Donc, si on considère que le comportement observé dépend en partie de l'activité de l'axe corticotrope, les données comportementales obtenues pour ces deux groupes d'animaux ne sont pas comparables. Cependant, les résultats des animaux traités à la métyrapone permettent d'obtenir certaines informations. Tout d'abord, la restitution de la

première discrimination est modifiée par le stress : globalement, le choc a tendance à l'améliorer, que les animaux soient traités à la métyrapone ou non. Il semble donc que l'effet du stress sur la restitution de la première discrimination ne fasse pas intervenir les glucocorticoïdes puisque l'inhibition de la synthèse de corticostérone par la métyrapone ne modifie pas ou peu les performances. La restitution de la seconde discrimination est également modulée par le stress, mais dans ce cas de figure, il semble que la modulation s'exerce, au moins en partie, par l'intermédiaire de la corticostérone puisque le traitement à la métyrapone modifie significativement les performances. La principale difficulté d'interprétation est liée au fait que la métyrapone agit aussi chez les animaux témoins solvant non choqués, sensés être les témoins de référence avec une concentration basale de corticostérone. Or ces animaux présentent une concentration de corticostérone relativement élevée, du fait de « l'effet piqûre », et les performances pour la seconde discrimination sont correctes (41%). La métyrapone, en réduisant de moitié la concentration plasmatique de corticostérone chez ces animaux, améliore significativement les performances (63%) et diminue le pourcentage de réponses fausses. Chez les animaux témoins solvant choqués, la concentration de corticostérone est significativement plus élevée que chez les témoins solvant non choqués (« effet piqûre » + « effet choc ») et les performances pour la seconde discrimination sont très élevées (57%). La métyrapone réduit significativement les performances (33%) et accroît le pourcentage d'interférences proactives. Finalement, nos données indiquent que l'effet facilitateur du stress sur la restitution de la première discrimination ne dépend pas de la concentration de corticostérone plasmatique. Cet effet met certainement en jeu d'autres voies de signalisation impliquées dans la réponse au stress et dans la modulation des processus mnésiques. La CRH, l'ACTH, la vasopressine ou l'ocytocine peuvent être libérées suite à un

stress et possèdent, comme les glucocorticoïdes, des récepteurs centraux leur permettant d'exercer un effet modulateur sur les processus cognitifs. De telles molécules pourraient éventuellement être responsables de la modulation exercée par le stress sur la restitution de la première discrimination. Le système GABA/BDZ et/ou le système cholinergique pourraient également être à l'origine de cette modulation, puisque nous avons vu précédemment que la  $\beta$ CCM, agoniste inverse des récepteurs GABA/BDZ ou la physostigmine produisaient, sur la restitution de la première information, un effet facilitateur comparable, bien que plus important. En revanche, la modulation de la restitution de la seconde discrimination met en jeu des processus faisant intervenir les glucocorticoïdes puisqu'elle est modifiée par le traitement à la métyrapone. Mais la relation entre la concentration de glucocorticoïdes et la modulation de la réponse comportementale semble relativement complexe. En effet, pour des concentrations plasmatiques moyennement élevées (chez les animaux Témoins solvant piqués non choqués), la corticostérone perturbe la restitution de la seconde discrimination, puisque la métyrapone améliore significativement les performances. Dans ce cas de figure, l'amélioration des performances est liée à une réduction du pourcentage de réponses fausses, sans modification du pourcentage d'interférences proactives. En revanche, pour des concentrations plasmatiques plus élevées (Témoins solvants piqués choqués), la corticostérone facilite la restitution puisque la métyrapone réduit les performances. Dans ce cas de figure, la réduction des performances est liée à une augmentation de l'interférence proactive. Ainsi, la métyrapone induit une modification des performances de sens opposé chez les animaux non choqués (amélioration) et chez les animaux choqués (perturbation). De plus, les modifications de performances induites par la métyrapone ne semblent pas être liées aux mêmes processus psychologiques puisque dans le premier cas le traitement exerce son

effet par l'intermédiaire d'une modulation des réponses fausses sans affecter l'interférence proactive, alors que dans l'autre cas, l'effet de la métyrapone s'exerce par l'intermédiaire d'une modulation des interférences proactives sans affecter les réponses fausses. Ainsi, les données comportementales relatives à l'effet de la métyrapone sont assez hétérogènes, alors qu'au contraire, du point de vue endocrinien, les valeurs de corticostérone plasmatique sont comparables pour les deux groupes (Non Choqués et Choqués). Ces données suggèrent que, bien que la modulation de la restitution de la seconde discrimination par le stress dépende de processus mettant en jeu les glucocorticoïdes, il n'existe pas de relation directe entre la réponse comportementale et la concentration de corticostérone circulante dans notre épreuve. En d'autres termes, pour comprendre les effets de la métyrapone, on doit envisager l'implication d'autres voies de signalisation, en interaction avec la voie des glucocorticoïdes, dans la modulation des processus de restitution par le stress. Par ailleurs, il est possible que la métyrapone, en réduisant la concentration de corticostérone plasmatique, produise une contradiction entre l'état endogène de l'animal et son évaluation cognitive de la situation. Cette incohérence au sein d'un même organisme, entre l'état physiologique d'une part et l'état psychologique d'autre part pourrait être à l'origine des effets ambigus de la métyrapone. Les travaux relatifs aux effets du stress et des glucocorticoïdes sur la restitution mnésique chez l'homme (De Quervain et al, 2000) et chez l'animal (De Quervain et al, 1998) proviennent pour l'essentiel de l'équipe de McGaugh. Chez le rat, ces auteurs montrent qu'un choc électrique délivré 30 minutes avant le test perturbe la restitution dans une épreuve de mémoire spatiale à long terme acquise 24 heures auparavant dans la piscine de Morris. L'injection de métyrapone bloque la perturbation induite par le stress. Nos résultats sont en accord avec ces travaux sur certains points : le stress et les glucocorticoïdes peuvent influencer la phase de restitution



indépendamment de l'acquisition et de la consolidation. En bloquant la synthèse de corticostérone par la métyrapone, on modifie cet effet du stress sur la restitution mnésique. En outre, nos résultats montrent que l'effet des glucocorticoïdes varie selon le type d'information à restituer et le type de stress. Ainsi on n'observe aucun effet sur la discrimination 1, une facilitation sur la discrimination 2 chez les animaux piqués choqués et une perturbation toujours sur la discrimination 2 chez les animaux piqués non choqués. Ces données sont en accord avec les travaux de Lupien et McEwen indiquant que les glucocorticoïdes ont des effets multiples et souvent contradictoires sur la fonction mnésique notamment sur les phases d'acquisition et de consolidation (Lupien et McEwen, 1997). Les résultats de McGaugh suggèrent que la perturbation mnésique est directement corrélée à la concentration de corticostérone circulante puisque l'injection de corticostérone à des rats non stressés produit le même effet délétère que le stress lui-même sur la restitution. Au contraire l'étude des effets de la métyrapone dans notre protocole, indique que les glucocorticoïdes ne sont certainement pas les seules molécules en cause et que le stress affecte la restitution selon des processus complexes dont les glucocorticoïdes ne seraient qu'un maillon. Cette divergence peut être liée à l'espèce (Rat ou Souris) ou à l'épreuve mnésique utilisée. La piscine de Morris est une épreuve relativement « aversive » alors que notre protocole est basé sur la recherche d'un renforcement alimentaire. De plus nous avons observé dans notre protocole un effet de la piqûre sur la concentration de corticostérone plasmatique et sur les performances indiquant que la piqûre constitue en elle-même une expérience stressante. Les animaux témoins solvant de l'expérience de McGaugh ne présentent, quant à eux, aucune augmentation du niveau de corticostérone et aucune modification comportementale. Cette différence entre les groupes témoins des deux expériences peut être à l'origine de la divergence de certaines

données. Dans notre travail comme dans celui de l'équipe de McGaugh, la rapidité de l'effet du stress et des glucocorticoïdes sur la restitution mnésique (entre 6 et 11 minutes pour notre expérience et 30 minutes pour l'expérience de McGaugh) exclue l'action génomique classique de la corticostérone via les récepteurs nucléaires et suggère que les effets mnésiques que nous observons dépendent de processus plus rapides. On sait que les stéroïdes dont la corticostérone, sont capables de modifier l'activité cérébrale et le comportement par l'intermédiaire de mécanismes génomiques, classiquement décrits dans la littérature. Cet effet génomique, mettant en jeu la transcription de gènes et la synthèse protéique, implique une latence relativement longue entre l'exposition aux stéroïdes et l'observation de la réponse. Cependant, de plus en plus de données suggèrent que certaines réponses aux glucocorticoïdes mettent en jeu des mécanismes non génomiques, dont les conséquences sont observables beaucoup plus rapidement, de l'ordre de quelques secondes à plusieurs minutes (Borski et al, 1991 ; Rose et al, 1993; Breuner et al, 1998), latences incompatibles avec le mécanisme génomique classique. Confortant l'argument temporel, certaines données apportent des arguments complémentaires à l'appui de l'existence de ces effets non génomiques. Des réponses rapides peuvent être induites par des stéroïdes couplés au BSA (Bovin Serum Albumin), molécule trop grosse pour entrer dans la cellule et permettre l'accès au noyau, ce qui indique que les stéroïdes peuvent initier des réponses au niveau de la membrane plasmique ( Gu et Moss, 1998 ; DeBold et Frye,1994). Cet effet pourrait mettre en jeu des récepteurs de surface liés aux récepteurs GABA (Orchinik et al, 1994). Nous rappelons ici, que le récepteur GABA possède lui même un site de fixation spécifique aux stéroïdes. L'effet de la corticostérone sur l'activité locomotrice chez le rat n'est pas abolit par un traitement au cycloheximide, inhibiteur de la synthèse protéique (Sandi et al,

1996a). De même, les effets comportementaux rapides de l'injection de corticostérone chez le rat ne sont pas bloqués par l'administration d'antagonistes des récepteurs aux glucocorticoïdes nucléaires de type I (RU28318) et de type II (RU38486) (Sandi et al, 1996a). Enfin, l'augmentation de l'activité locomotrice induite par la corticostérone peut être bloquée par des inhibiteurs de la synthèse d'oxyde nitrique (NO) suggérant que le NO est impliqué dans cette réponse (Sandi et al, 1996b). Ces différentes observations indiquent que les stéroïdes, dont la corticostérone, exerceraient différents effets leur permettant de moduler un large éventail de fonctions à l'intérieur d'une vaste fenêtre temporelle allant de la microseconde à plusieurs jours. Ces effets s'exercent par l'intermédiaire de différents types de récepteurs : une réponse génomique plutôt lente par le biais de récepteurs nucléaires et une réponse plus rapide par le biais de récepteurs membranaires. Différents récepteurs membranaires ont été impliqués dans les effets rapides non génomiques des stéroïdes : les récepteurs GABA (Serra et al, 2000 ; Kavaliers et Ossenkopp, 2001), glutamatergiques NMDA ( Mondadori et al, 1993 ; Kavaliers et Ossenkopp, 2001) , cholinergiques (Gilad et al, 1985, 1987 ; Shi et al, 2001) et plus récemment, le récepteur  $s_1$  (Su et al, 1990). Ainsi, la corticostérone ou certains de ses métabolites potentialiseraient la transmission gabaergique en augmentant le courant chlore (Maitra et Reynolds, 1999), potentialiseraient également la transmission glutamatergique (Armanini et al, 1990) et augmenteraient la libération d'acétylcholine directement ou indirectement (Gilad, 1987 ; Gilad et al, 1987). Les travaux de Mondadori et Weiskrantz (1993) concernant les interactions entre corticostérone, récepteurs NMDA et mémoire fournissent une interprétation qui pourrait s'appliquer à nos propres résultats. Ces auteurs ont en effet montré que l'administration de bloquants des récepteurs NMDA induit soit une amélioration soit une perturbation des performances selon la

tâche réalisée. La facilitation mnésique peut être supprimée par un pré-traitement à la corticostérone alors que la perturbation est insensible à l'action du stéroïde. Ceci suggère que l'implication des récepteurs NMDA dans la mémoire et la modulation par la corticostérone dépend de la nature des processus mnésiques mis en jeu. Ces résultats démontrent la complexité de l'effet des glucocorticoïdes sur la restitution que nous avons nous même observée et suggèrent que les relations corticostérone/récepteurs NMDA peuvent en partie rendre compte de cette complexité. Le récepteur  $s_1$  cloné et entièrement séquencé en 1996 (Hanner et al, 1996) ne présente d'homologie avec aucun des récepteurs déjà connus, il est présent en périphérie et dans le cerveau, essentiellement au niveau de l'hippocampe, de l'hypothalamus et du cervelet. Le récepteur  $s_1$  constitue un site récepteur pour de nombreux stéroïdes neuroactifs comme la DHEA, la prègnénolone sulfate et certains métabolites de la corticostérone et son effet s'exercerait par modulation de la concentration intracellulaire de calcium. Au niveau cellulaire le récepteur  $s_1$  aurait un effet modulateur sur les récepteurs NMDA, sur la libération d'acétylcholine et sur les systèmes monoaminergiques, et au niveau comportemental, il est impliqué dans l'apprentissage et la mémoire, la réponse au stress, la dépression, la neuroprotection et la pharmacodépendance (pour revue voir Maurice et al, 2001).

En conclusion, l'ensemble de cette étude pharmacologique permet d'apporter une validation pharmacologique à notre modèle comportemental. En outre, elle permet de mettre en évidence une implication des voies Gabaergique et Cholinergique dans la modulation des processus de restitution, indépendamment de l'acquisition et la consolidation. Les systèmes Gabaergiques et Cholinergiques semblent être particulièrement impliqués dans la modulation de la restitution de la première information mais n'affectent pas ou peu la restitution de la seconde

information. Cette modulation s'exerce par le biais de modifications du taux de réponses interférentes. Nous avons également mis en évidence une implication des glucocorticoïdes dans la modulation des processus de restitution par le stress, indépendamment de l'acquisition et la consolidation. Cette modulation concerne plus particulièrement la restitution de la seconde information mais n'affecte pas ou peu la restitution de la première information. Les effets des glucocorticoïdes sont rapides et s'exerceraient par le biais de récepteurs membranaires notamment les récepteurs GABA, cholinergiques et NMDA comme nous l'avons vu précédemment, plutôt que par l'intermédiaire de récepteurs nucléaires induisant une réponse génomique beaucoup plus lente. Les effets des glucocorticoïdes sur la restitution sont complexes puisqu'ils produisent des effets opposés (amélioration ou perturbation) et de nature psychologique différente (modulation des réponses fausses ou interférentes) selon le type d'information et le type de stress. Ces observations suggèrent que les glucocorticoïdes ne sont pas les seules molécules impliquées dans les effets du stress et que d'autres voies, indépendamment ou en interaction avec la voie des glucocorticoïdes, participent à la modulation de la restitution par le stress. Au regard de la discussion des résultats comportementaux discutés dans la chapitre IV, nous pouvons émettre l'hypothèse suivante : les systèmes Gabaergique et Cholinergique modèleraient plutôt les attributs temporels du souvenir (puisque l'intervention pharmacologique sur ces deux voies affecte davantage la restitution de la 1<sup>ère</sup> discrimination) et les glucocorticoïdes modèleraient plutôt les attributs contextuels du souvenir (puisque l'intervention pharmacologique sur cette voie affecte la restitution de la 2<sup>ème</sup> discrimination). Par ailleurs, l'étude pharmacologique met en évidence une dissociation nette entre l'anxiété physiologique induite par le stress (qui module la 2<sup>ème</sup> information) et l'anxiété pharmacologique induite par la  $\beta$ CCM (qui module la 1<sup>ère</sup> information).

# Chapitre VI

**STRESS, ALCOOLISATION CHRONIQUE ET  
RESTITUTION MNESIQUE (DSCS)**

**études comportementale et immunohistochimique**

## INTRODUCTION

Les expériences précédentes nous ont permis de valider un modèle comportemental permettant d'étudier les effets du stress sur les processus de restitution mnésique chez l'animal normal. Sur ce modèle, nous avons montré que le choc électrique, appliqué 5 minutes avant la phase de rétention, induit une inversion de la restitution sur le plan comportemental, parallèlement à une activation de l'axe corticotrope sur le plan endocrinien qui semble être impliquée en partie dans la modulation de la restitution mnésique. De plus, les données issues de l'étude pharmacologique suggèrent que les neurotransmissions Gabaergiques et Cholinergiques pourraient également intervenir dans cette modulation. L'étude immunohistochimique de l'expression de la protéine Fos a permis de déterminer certaines des régions cérébrales impliquées dans la restitution mnésique, dans la réponse au stress et dans l'interaction entre processus mnésiques et processus émotionnels.

Des études antérieures réalisées au laboratoire montrent que les souris alcoolisées présentent un déficit mnésique portant plus particulièrement sur la phase de restitution dans le protocole d'alternance spontanée ainsi qu'une réduction de la réactivité émotionnelle de peur en situation anxiogène (Cf. Introduction Générale). Ces modifications comportementales semblent essentiellement liées à un dysfonctionnement des corps mamillaires de l'hypothalamus (Béracochéa et al, 1989 ; Bontempi et al, 1996). L'injection de  $\beta$ CCM, molécule anxiogène, agoniste inverse des récepteurs GABA/BDZ restaure une activité normale des corps mamillaires ainsi que des niveaux de performances et de réactivité émotionnelle normaux, chez ces même animaux alcoolisés. Une interprétation de ces données est que le déficit mnésique des animaux alcoolisés serait consécutif aux troubles émotionnels, puisqu'en restaurant

pharmacologiquement une réactivité émotionnelle normale, on restaure également des performances mnésiques normales. L'épreuve de DCSC est particulièrement pertinente pour éprouver cette hypothèse puisqu'elle permet d'étudier l'effet d'un stress pourvu d'un effet anxiogène sur la restitution. Dans cette épreuve, la modification du niveau émotionnel n'est pas induite par voie pharmacologique, comme dans les études citées précédemment, mais elle est totalement physiologique et non invasive.

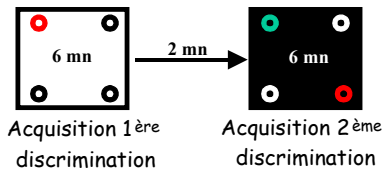
Dans ce chapitre, nous étudions l'effet de l'alcoolisation chronique sur l'épreuve de discriminations spatiales contextuelles sérielles ainsi que les effets du stress sur la restitution mnésique chez ces animaux. Afin de déterminer les substrats neurobiologiques éventuellement affectés par l'alcoolisation chronique ainsi que ceux impliqués dans cette épreuve, l'étude comportementale est associée à une étude immunohistochimique de l'expression de la protéine Fos.

## **I ETUDE COMPORTEMENTALE**

Des animaux ont été soumis au protocole d'alcoolisation chronique (animaux « alcool ») décrit dans le chapitre II. Les groupes témoins sont constitués d'animaux recevant soit de l'eau (témoins « eau ») soit de l'amisol (témoins « amisol »). Dans la mesure où nous n'avons observé aucune différence significative entre ces deux groupes témoins, nous les avons regroupés pour les analyses statistiques. Ils constituent le groupe « témoins » des animaux « alcool ».



### Rappel du protocole



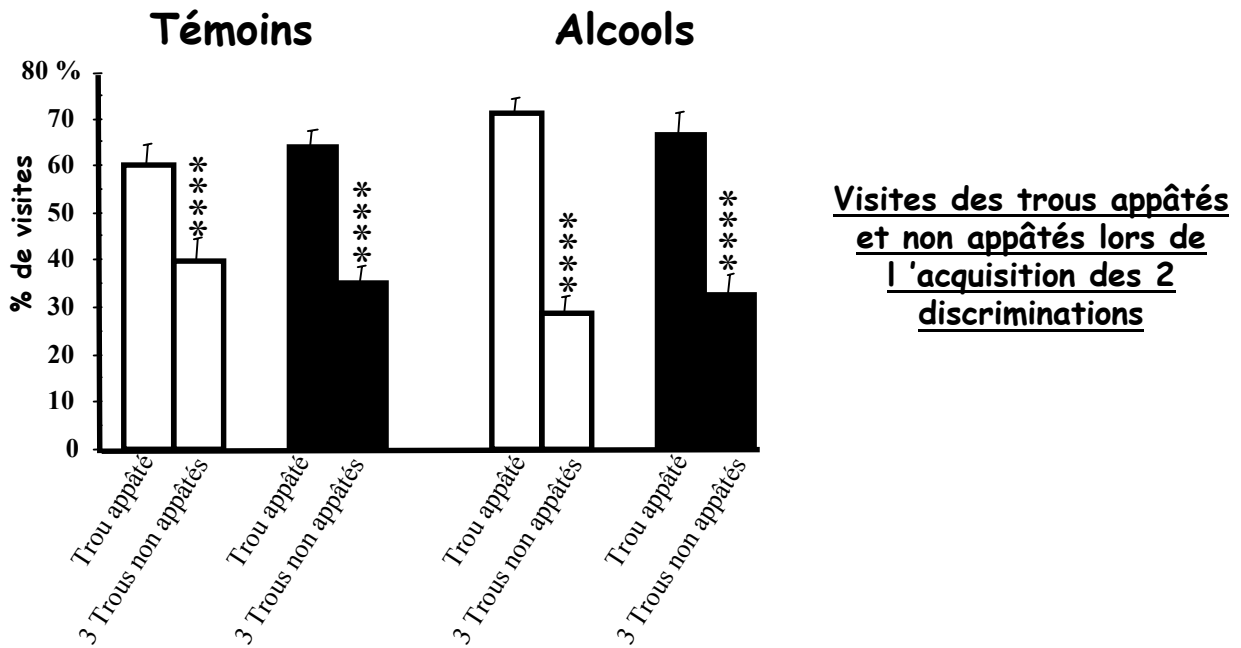
### Légendes

Trous appâtés → ●

Trous non appâtés → ● ⊙ Trous faux  
● Trou interférent

□ Discrimination 1

■ Discrimination 2



### Détail des visites des trous non appâtés lors de l'acquisition de la seconde discrimination

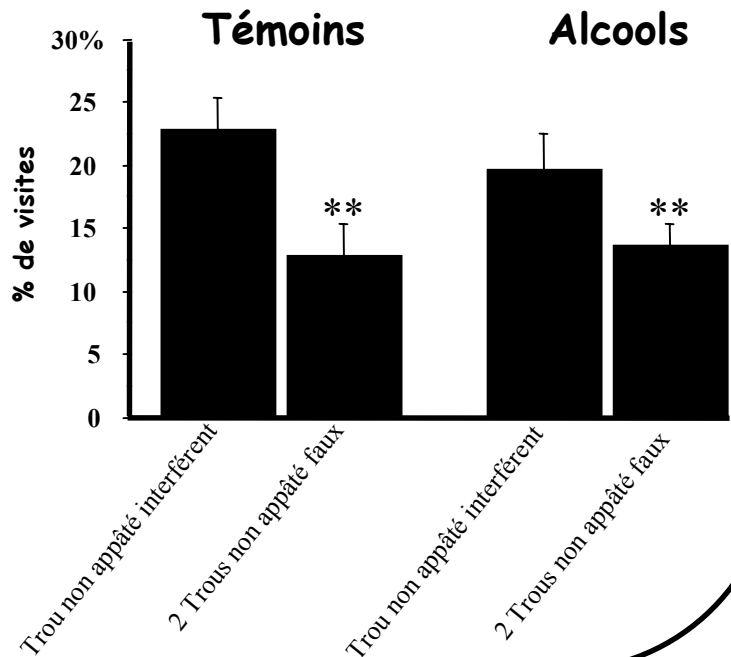


Figure VI.1 : Analyse du pourcentage de visite en fonction de la nature des trous lors de la phase d'acquisition

## A. EFFET DE L'ALCOOLISATION CHRONIQUE

### 1. Procédure expérimentale (Cf. Figure VI.1)

#### a. Protocole

La procédure expérimentale est la même que celle décrite dans le Chapitre IV : Discriminations spatiales sérielles contextuelles (DSCS).

Nous rappelons que tous les animaux sont soumis à un seul essai de rétention portant soit sur la 1<sup>ère</sup> discrimination, qui permet d'étudier l'effet de l'interférence rétroactive, soit sur la 2<sup>ème</sup> discrimination qui permet d'étudier l'effet de l'interférence proactive.

#### b. Constitution des groupes expérimentaux

Les animaux ont été répartis en 8 groupes :

TRAITEMENT	DISCRIMINATION	CONDITION	Effectifs et Noms
ALCOOLISATION CHRONIQUE	Discr1 interférence rétroactive	CHOC	N = 8 : Alcool/C1
		NON CHOC	N = 9 : Alcool/NC1
	Discr2 interférence proactive	CHOC	N = 7 : Alcool/C2
		NON CHOC	N = 8 : Alcool/NC2
TEMOINS	Discr1 interférence rétroactive	CHOC	N = 7 : Témoin/C1
		NON CHOC	N = 9 : Témoin/NC1
	Discr2 interférence proactive	CHOC	N = 9 : Témoin/C2
		NON CHOC	N = 9 : Témoin/NC2

## 2. Résultats

#### a. Acquisition (Cf. Figure VI.1)

Dans la mesure où les animaux ne sont répartis en différents groupes, en fonction de la condition (animaux choqués ou non choqués) qu'après l'acquisition, cette étude porte sur l'ensemble des animaux « alcools » (N = 32) et « témoins » (N = 34).

Une analyse globale ANOVA en mesures répétées révèle un effet significatif de la nature des trous (appâtés versus non appâtés :  $F(1,64) = 67.2$  ;  $p < 0.0001$ ). En revanche, il n'y a aucun effet du traitement (alcool versus témoin :  $F(1,64) = 1.1$  ;  $p = 0.3$ ), ni de la discrimination (discrimination 1 versus discrimination 2 :  $F(1,64) = 1.1$  ;  $p = 0.3$ ) et l'interaction Nature des trous X Discrimination n'est pas significative non plus ( $F(1,64) < 1.0$ ). En d'autres termes, les animaux des deux groupes visitent plus fréquemment le trou appâté que les 3 trous non appâtés réunis, quelle que soit la discrimination (pour la discrimination 1 , le pourcentage de visite du trou appâté est  $71.1 \pm 3.1\%$  pour le groupe alcool et  $59.3 \pm 4.5\%$  pour le groupe témoin ; le pourcentage de visite des 3 trous non appâtés réunis est de  $28.9 \pm 3.1\%$  pour le groupe alcool et de  $40.7 \pm 4.5\%$  pour le groupe témoin. Pour la discrimination 2 , le pourcentage de visite du trou appâté est  $67.1 \pm 3.9\%$  pour les alcools et  $63.4 \pm 2.8\%$  pour les témoins ; le pourcentage de visite des 3 trous non appâtés réunis est  $32.9 \pm 3.9\%$  pour les alcools et  $36.6 \pm 2.8\%$  pour les témoins). Ces résultats semblent suggérer que pour chacun des groupes, l'acquisition de la première discrimination n'influence pas le comportement des animaux lors de l'acquisition de la deuxième discrimination. Cependant, si on analyse plus précisément la répartition des visites des 3 trous non appâtés lors de l'apprentissage de la seconde discrimination, on voit apparaître un effet significatif selon la nature des trous non appâtés : les 2 trous faux (c'est à dire jamais appâtés) versus le trou interférent (c'est à dire appâté lors de la première discrimination) :  $F(1,64) = 10.5$  ;  $p = 0.002$ ). On n'observe aucun effet de l'alcoolisation chronique (effet traitement :  $F < 1.0$ ) En d'autres termes lors de l'apprentissage de la seconde discrimination, les animaux des 2 groupes visitent significativement plus fréquemment le trou interférent non appâté ( $19.5 \pm 2.9\%$  de visites pour les alcools et  $23.4 \pm 2.5\%$  pour les témoins) que les deux trous faux réunis ( $13.4 \pm 1.9\%$  pour les alcools et  $13.2 \pm 2.5\%$  pour les témoins).

## Activité exploratoire lors de l'acquisition des 2 discriminations

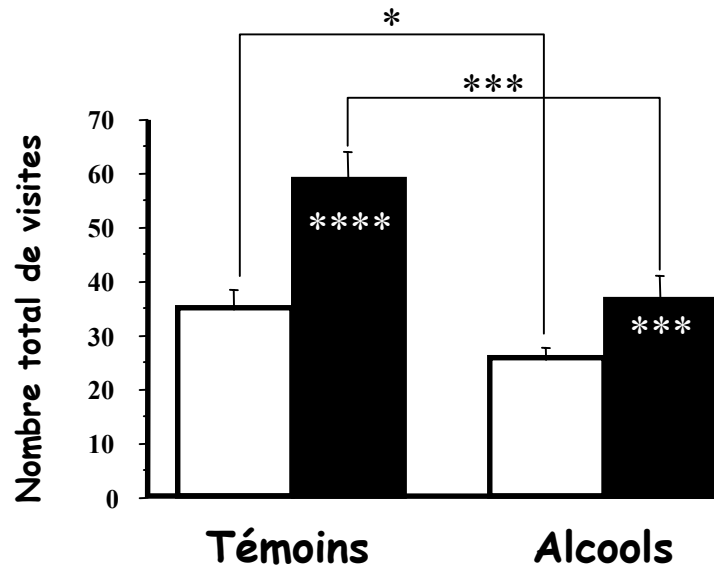


Figure VI.2 : Analyse de l'activité exploratoire lors de la phase d'acquisition

## Performances

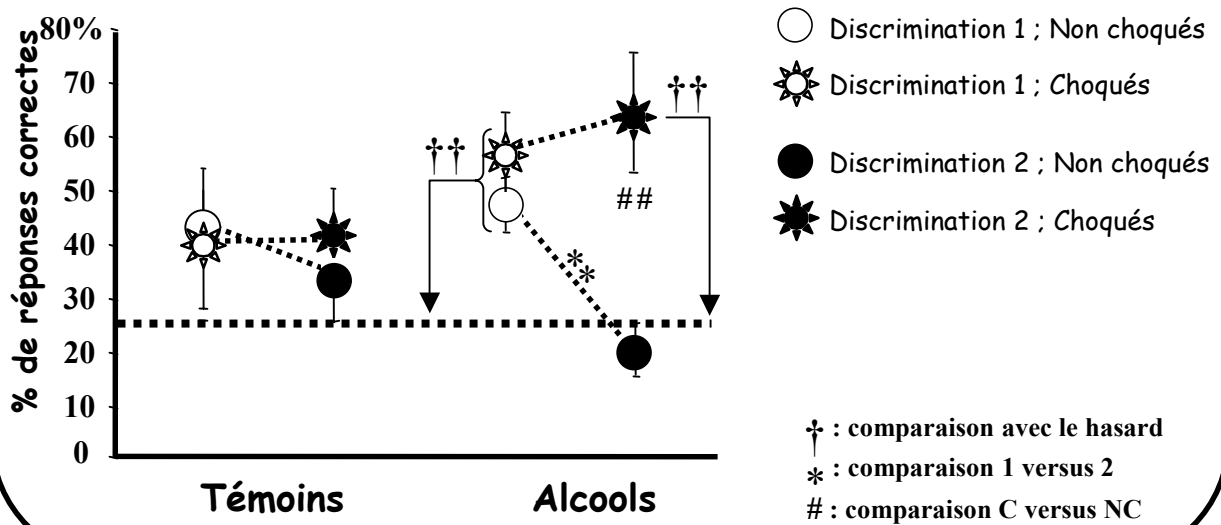


Figure VI.3: Analyse des performances: effet de l'alcoolisation chronique, effet du choc et du type d'interférence (discrimination 1 ou 2)

L'analyse des fréquences totales de visite des trous (Cf. Figure VI.2) indique une différence significative entre l'acquisition de la première discrimination et celle de la seconde ( $F(1,64) = 36.3$  ;  $p < 0.0001$ ) ainsi qu'un effet significatif du traitement ( $F(1,64) = 14.8$  ;  $p = 0.0003$ ). Plus précisément les animaux alcools présentent une activité exploratoire significativement plus importante sur la 2<sup>ème</sup> discrimination ( $37.2 \pm 3.8$  visites totales) que sur la 1<sup>ère</sup> ( $25.5 \pm 2.4$  ;  $F(1,31) = 13.3$  ;  $p = 0.001$ ). Il en est de même pour les animaux témoins ( $61.1 \pm 4.5$  de visites totales sur la 2<sup>ème</sup> discrimination versus  $35.3 \pm 4.0$  sur la 1<sup>ère</sup> ;  $F(1,33) = 22.9$  ;  $p < 0.0001$ ). De plus, les animaux alcools explorent significativement moins que les témoins sur les 2 discriminations ( $F(1,64) = 4.3$  ;  $p = 0.04$  pour la 1<sup>ère</sup> discrimination et  $F(1,64) = 16.2$  ;  $p = 0.0002$  pour la 2<sup>ème</sup> discrimination).

**En résumé, les résultats de la phase d'acquisition indiquent que pour les deux groupes, l'apprentissage de la 2<sup>ème</sup> discrimination est influencé par celui de la 1<sup>ère</sup>. En effet, lors de l'apprentissage de la 2<sup>ème</sup> discrimination, le trou interférent (appâté lors de l'acquisition précédente) n'est plus neutre et il est plus fréquemment visité que les autres trous non appâtés. Néanmoins, il reste moins visité que le trou appâté. De plus, l'activité exploratoire est globalement réduite chez les animaux alcoolisés par rapport à leurs témoins et elle est augmentée lors de la 2<sup>ème</sup> discrimination par rapport à la 1<sup>ère</sup> pour les deux groupes.**

### b. Rétention

#### *i) Performances (Cf. Figure VI.3)*

L'analyse globale ANOVA factorielle montre un effet significatif du choc ( $F(1,58) = 5.8$  ;  $p = 0.02$ ). Par contre, ni le traitement d'alcoolisation chronique ( $F(1,58) = 1.03$  ;  $p = 0.3$ ), ni le type d'interférence ( $F(1,58) = 1.2$  ;  $p = 0.28$ ) n'ont d'effet significatif sur les performances. Cependant, l'interaction Choc X

Traitement est significative ( $F(1,58) = 4.75$  ;  $p = 0.03$ ) et l'interaction Choc X Interférence est proche de la signification statistique ( $F(1,58) = 3.6$  ;  $p = 0.06$ ). Plus précisément, les performances des animaux du groupe alcool sont sensibles à l'effet du choc ( $F(1,28) = 14.4$  ;  $p = 0.0007$ ) et l'interaction Choc X Interférence est significative ( $F(1,28) = 6.1$  ;  $p = 0.02$ ) alors que les performances des animaux du groupe témoin ne sont pas influencées par le choc ( $F < 1.0$ ) et l'interaction Choc X Interférence n'est pas significative ( $F < 1.0$ ).

Une analyse plus fine des performances du groupe alcool indique que les animaux non choqués répondent significativement mieux sur la 1<sup>ère</sup> discrimination ( $47.6 \pm 4.9\%$  de réponses correctes) que sur la 2<sup>ème</sup> ( $21.0 \pm 4.6\%$  de réponses correctes ;  $F(1,15) = 15.8$  ;  $p = 0.0012$ ). De plus, seules les performances sur la 1<sup>ère</sup> discrimination sont significativement supérieures au hasard ( $t = 4.66$  ;  $p = 0.0016$ ). Sur la 2<sup>ème</sup> discrimination, les performances sont au hasard ( $t = -0.88$  ;  $p = 0.4$ ). En revanche, les souris choquées réussissent aussi bien la 1<sup>ère</sup> ( $56.9 \pm 7.7\%$  de réponses correctes) que la 2<sup>ème</sup> discrimination ( $64.8 \pm 10.6\%$  de réponses correctes ;  $F < 1.0$ ) avec des performances significativement supérieures au hasard dans les deux cas ( $t = 4.16$  ;  $p = 0.004$  et  $t = 3.75$  ;  $p = 0.009$  respectivement). De plus, une analyse portant sur chacune des deux discriminations montre qu'il n'y a pas d'effet significatif du choc sur la 1<sup>ère</sup> discrimination ( $F(1,15) = 1.1$  ;  $p = 0.3$ ) alors que cet effet est significatif sur la 2<sup>ème</sup> discrimination ( $F(1,13) = 15.8$  ;  $p = 0.0015$ ).

Une analyse plus détaillée des performances du groupe témoin indique que les animaux non choqués répondent au hasard sur la 1<sup>ère</sup> discrimination ( $45.1 \pm 9.7\%$  de réponses correctes ;  $t = 2.06$  ;  $p > 0.07$ ) ainsi que sur la 2<sup>ème</sup> ( $37.0 \pm 9.0\%$  de réponses correctes ;  $t = 1.33$  ;  $p = 0.2$ ) de façon totalement comparable ( $F < 1.0$ ). De la même façon, les souris choquées de ce même groupe témoin présentent des

performances comparables ( $F < 1.0$ ) et au hasard pour la 1<sup>ère</sup> discrimination ( $41.7 \pm 7.6\%$  de réponses correctes ;  $t = 2.2$  ;  $p = 0.07$ ) comme pour la 2<sup>ème</sup> ( $43.1 \pm 8.8\%$  de réponses correctes ;  $t = 2.05$  ;  $p = 0.075$ ). De plus, une analyse portant sur chacune des deux discriminations montre qu'il n'y a pas d'effet significatif du choc ni sur la 1<sup>ère</sup> discrimination ( $F < 1.0$ ) ni sur la 2<sup>ème</sup> discrimination ( $F < 1.0$ ).

Sur la 1<sup>ère</sup> discrimination et chez les animaux non choqués, on n'observe aucune différence entre les groupes alcool et témoin ( $F < 1.0$ ). Il en est de même chez les animaux choqués ( $F(1,13) = 2.0$  ;  $p = 0.2$ ) ; rappelons toutefois que dans ce cas, les animaux alcool présentent des performances supérieures au hasard ( $t = 4.16$  ;  $p = 0.004$ ) alors que les animaux témoins répondent au hasard ( $t = 2.2$  ;  $p = 0.07$ ).

Sur la 2<sup>ème</sup> discrimination et chez les animaux non choqués, on n'observe aucune différence entre les groupes alcool et témoin ( $F(1,15) = 2.3$  ;  $p = 0.15$ ). Il en est de même chez les animaux choqués ( $F(1,14) = 2.5$  ;  $p = 1.15$ ) ; rappelons toutefois que, dans ce cas, les animaux alcool présentent des performances supérieures au hasard ( $t = 3.75$  ;  $p = 0.009$ ) alors que les animaux témoins répondent au hasard ( $t = 2.05$  ;  $p = 0.075$ ).

**En résumé, les résultats montrent que i) en condition normale (c'est à dire sans choc électrique) les animaux témoins répondent au hasard quel que soit le type d'interférence (nous reviendrons sur ce « déficit » ultérieurement) ii) le choc électrique n'a aucun effet sur leurs performances iii) en condition normale, les animaux alcoolisés présentent des performances élevées sur la 1<sup>ère</sup> discrimination alors qu'ils répondent au hasard sur la 2<sup>ème</sup> discrimination iv) le choc électrique améliore significativement leurs performances sur la 2<sup>ème</sup> discrimination mais n'affecte pas leurs performances sur la 1<sup>ère</sup> discrimination, qui restent élevées .**

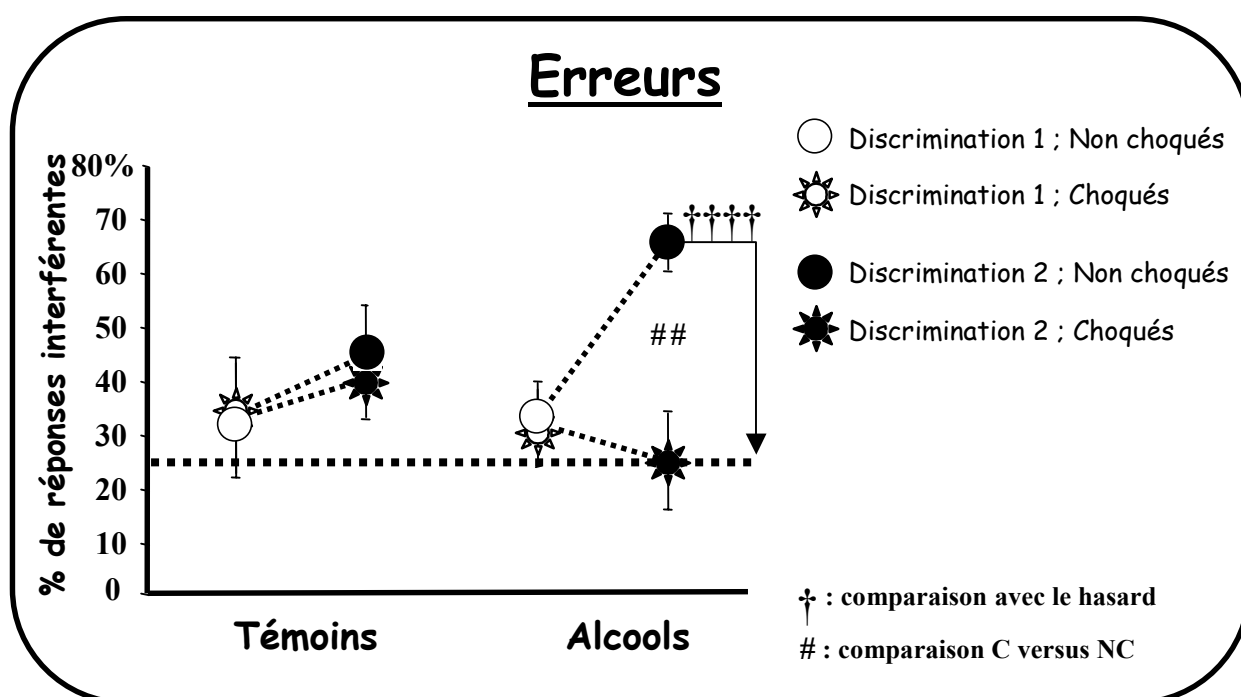


Figure VI.4: Analyse des réponses interférentes: effet de l'alcoolisation chronique, effet du choc et du type d'interférence (discrimination 1 ou 2)



ii) *Analyses du type d'erreur*

◆ **Réponses fausses**

L'analyse globale indique que ni le traitement ( $F(1,58) = 2.5$  ;  $p = 0.12$ ) ni le type d'interférence ( $F < 1.0$ ), ni le choc électrique ( $F < 1.0$ ) n'ont d'effet sur le pourcentage de réponses fausses. Aucune interaction n'est significative ( $F < 1.0$  dans tous les cas). De plus, le pourcentage de réponses fausses est toujours significativement inférieur au hasard (50 %) pour les 8 groupes étudiés (Alcool/NC1 :  $t = -6.65$  ;  $p = 0.0002$  ; Alcool/NC2 :  $t = -11.31$  ;  $p < 0.0001$  ; Alcool/C1 :  $t = -21.5$  ;  $p < 0.0001$  ; Alcool/C2 :  $t = -15.7$  ;  $p < 0.0001$  ; Témoin/NC1 :  $t = -3.3$  ;  $p = 0.01$  ; Témoin/NC2 :  $t = -7.5$  ;  $p < 0.0001$  ; Témoins/C1 :  $t = -4.8$  ;  $p = 0.003$  ; Témoin/C2 :  $t = -8.4$  ;  $p < 0.0001$ ).

◆ **Réponses interférentes (Cf. Figure VI.4)**

L'analyse globale ANOVA factorielle montre que ni le type d'interférence ( $F(1,58) = 2.8$  ;  $p = 0.1$ ), ni le traitement ( $F < 1.0$ ) n'ont d'effet sur le pourcentage de réponses interférentes. L'effet du choc n'est pas significatif ( $F(1,58) = 3.2$  ;  $p = 0.075$ ).

Une analyse plus détaillée portant sur le groupe alcool montre un effet significatif du choc ( $F(1,28) = 10.2$  ;  $p = 0.0035$ ) et l'interaction Interférence X Choc est également significative ( $F(1,28) = 8.9$  ;  $p = 0.006$ ). Ces données indiquent que le choc n'a pas d'effet sur le pourcentage de réponses interférentes en ce qui concerne la discrimination 1 (non choqués :  $33.8 \pm 4.9\%$  de réponses interférentes versus choqués :  $32.5 \pm 7.5\%$  ;  $F < 1.0$ ), le pourcentage de réponses interférentes est comparable au hasard dans les deux cas ( $t = 1.8$  ;  $p = 0.1$  et  $t = 0.99$  ;  $p = 0.35$  respectivement). En revanche, le choc a un effet significatif sur le pourcentage de réponses interférentes en ce qui concerne la discrimination 2 (non choqués :  $66.1 \pm 5.0\%$  de réponses interférentes versus

choqués :  $25.6 \pm 8.8\%$  ;  $F(1,13) = 17.1$  ;  $p = 0.0012$ ), le pourcentage de réponses interférentes est significativement supérieur au hasard dans le 1<sup>er</sup> groupe ( $t = 8.1$  ;  $p < 0.0001$ ) alors qu'il est au hasard dans le 2<sup>ème</sup> groupe ( $t = 0.065$  ;  $p = 0.9$ ). En d'autres termes, les animaux alcoolisés en condition normale présentent un fort taux d'interférences proactive et un taux faible d'interférences rétroactives. Le choc réduit significativement l'interférence proactive alors qu'il n'a aucun effet sur l'interférence rétroactive.

Une analyse plus détaillée portant sur le groupe témoin ne montre aucun effet significatif du choc ( $F < 1.0$ ) et de l'interférence ( $F < 1.0$ ). L'interaction Choc X Interférence n'est pas significative non plus ( $F < 1.0$ ). De plus, les pourcentages de réponses interférentes sont au hasard pour tous les groupes considérés (Témoin/NC1 :  $t = 0.8$  ;  $p = 0.4$  ; Témoin/NC2 :  $t = 2.3$  ;  $p = 0.055$  ; Témoin/C1 :  $t = 1.2$  ;  $p = 0.28$  ; Témoin/C2 :  $t = 2.2$  ;  $p = 0.06$ ).

*Remarque* : les valeurs des groupes Témoin/NC2 et Témoin/C2 sont proches de la signification statistique, c'est à dire que le pourcentage de réponses interférentes de ces 2 groupes est presque supérieur au hasard ; cette absence de signification statistique est probablement due à la grande variabilité interindividuelle qui existe au sein du groupe témoin et qui est à l'origine d'écart-types importants. Nous avons réalisé une comparaison de variance entre les groupes Agés, Jeunes et Alcools à l'aide de la méthode du F de Snédécour qui révèle que les animaux Agés présentent une plus grande variabilité interindividuelle que les animaux Jeunes, concernant les réponses justes et interférentes ( $p < 0.01$ ) et que les animaux Alcools concernant les réponses interférentes ( $p < 0.05$ ) et les réponses fausses ( $p < 0.01$ ).

### iii) Activité exploratoire

L'analyse globale indique que ni le traitement ( $F < 1.0$ ), ni le choc ( $F(1,58) = 3.5$  ;

$p = 0.07$ ), ni le type d'interférence ( $F < 1.0$ ) n'ont d'effet sur l'activité exploratoire des animaux. Aucune interaction n'est significative ( $F < 1.0$  dans tous les cas).

**En résumé, les résultats montrent que les animaux alcoolisés, en condition normale, présentent un fort taux d'interférences proactive et un taux faible d'interférences rétroactives. Le choc réduit significativement l'interférence proactive alors qu'il n'a aucun effet sur l'interférence rétroactive. Chez les animaux témoins, les réponses correctes comme les réponses interférentes sont au hasard et le choc est sans effet.**

L'activité exploratoire n'est affectée, ni par le choc, ni par le traitement, ni par le type d'interférence.

## **B. EFFETS DE L'AGE**

Dans l'expérience précédente, nous avons montré que les animaux du groupe témoin présentent des performances au hasard. Par ailleurs, lors de la phase d'acquisition, ils se comportent de façon quasiment comparable aux animaux alcoolisés (exceptée une activité exploratoire légèrement plus élevée). Il semble donc que globalement, les animaux témoins ne soient pas capables, soit de consolider l'apprentissage, soit de restituer les discriminations acquises, et ce, avec ou sans le choc électrique.

### **Mais quelle est la nature exacte de ce déficit ?**

Le protocole que nous utilisons, permet en effet de dissocier 2 types d'apprentissage :

Un apprentissage spatial général où l'animal apprend la localisation spatiale des trous appâtés.

Un apprentissage spécifique où la localisation du trou appâté varie en fonction de la position sérielle (ordre temporel) et du contexte (couleur/texteure du plancher).

Les résultats précédents portant sur la phase de rétention suggèrent que les animaux témoins ne sont pas capables de réaliser l'apprentissage spécifique puisqu'ils présentent des performances au hasard sur les 2 discriminations, avec ou sans le choc électrique. Sont-ils capables cependant de réaliser l'apprentissage général, impliquant les informations spatiales ?

Pour répondre à cette question, nous nous sommes intéressés aux réponses émises dans les 2 trous qui étaient appâtés lors de l'acquisition, sans tenir compte du contexte (couleur/texteure du plancher ou position sérielle) auquel chacun de ces trous est associé. Techniquement, nous avons regroupé les réponses émises dans le trou correct et dans le trou interférent sous le terme de « localisations spatiales correctes ».

Le déficit des animaux témoins pourrait être lié à l'âge: rappelons en effet que ce groupe est constitué d'animaux arrivés au laboratoire à l'âge de 6 à 8 semaines, recevant un traitement (eau ou amisol) pendant une durée minimale de 12 mois, avec une habituation progressive au traitement de 3 semaines et un sevrage progressif de 3 semaines ; de plus, ils ne sont soumis aux épreuves comportementales qu'après un délai de sevrage d'un mois (Cf. Chapitre II). Au total, les animaux témoins (N=34) sont âgés de 16 à 18 mois au moment de l'épreuve comportementale. Pour étudier un éventuel effet de l'âge, nous avons inclus dans les différentes analyses qui vont suivre, les résultats obtenus par les animaux jeunes adultes, âgées de 5 à 6 mois et ayant effectué l'épreuve de discriminations spatiales sérielles contextuelles au délai de rétention de 24 heures (Cf. Chapitre IV)(N=49).

## 1. Effet de l'âge sur l'acquisition

Une analyse globale ANOVA en mesure répétées indique un effet significatif de la nature des trous (appâté versus non appâté ;  $F(1,81) = 29.6$  ;  $p < 0.0001$ ) ; en revanche on n'observe aucun effet du groupe (Jeunes versus Agés :  $F < 1.0$ ) ni de la discrimination ( $F < 1.0$ ). Ces résultats montrent, comme précédemment décrit, que tous les animaux visitent plus fréquemment le trou appâté (pour la discrimination 1 : pourcentage de visites :  $61.6 \pm 4.6\%$  chez les Jeunes et  $59.3 \pm 4.5\%$  chez les Agés ; pour la discrimination 2 :  $63.0 \pm 3.0\%$  pour les Jeunes et  $63.4 \pm 2.8\%$  pour les Agés) que les 3 trous non appâtés réunis (pour la discrimination 1 : pourcentage de visites :  $38.4 \pm 4.6\%$  pour les Jeunes et  $40.7 \pm 4.5\%$  pour les Agés ; pour la discrimination 2 :  $37.0 \pm 3.0\%$  pour les Jeunes et  $36.6 \pm 2.8\%$  pour les Agés) , quelle que soit la discrimination. Lors de la 2<sup>ème</sup> discrimination, ils explorent significativement plus le trou interférent que les trous faux ( $F(1,81) = 10.25$  ;  $p = 0.002$ ).

L'analyse des fréquences totales de visite des trous révèle une différence significative d'activité exploratoire globale entre l'acquisition de la première discrimination et celle de la seconde (  $F(1,81) = 13.5$  ;  $p = 0.0004$ ) ainsi qu'un effet significatif du groupe ( Jeunes versus Agés :  $F(1,81) = 4.3$  ;  $p = 0.04$ ). L'interaction « Discrimination » X « Groupe » est également significative ( $F(1,81) = 22.9$  ;  $p < 0.0001$ ). En d'autres termes, les animaux âgés, comme on l'a vu précédemment, présentent une activité exploratoire plus importante sur la 2<sup>ème</sup> acquisition que sur la 1<sup>ère</sup> ( $F(1,33) = 24.33$  ;  $p < 0.0001$ ), ce qui n'est pas le cas des animaux jeunes qui explorent de façon comparable lors des deux acquisitions ( $F < 1.0$ ). De plus, lors de la 2<sup>ème</sup> acquisition, les animaux âgés explorent significativement plus que les jeunes (  $61.03 \pm 4.5$  et  $37.4 \pm 3.6$  visites totales respectivement ;  $F(1,81) = 17.1$  ;  $p < 0.0001$ ) alors que les deux groupes ne diffèrent pas en ce qui concerne la 1<sup>ère</sup> acquisition ( $F(1,81) = 1.2$  ;  $p = 0.27$  ;  $35.35$

## Localisations spatiales correctes

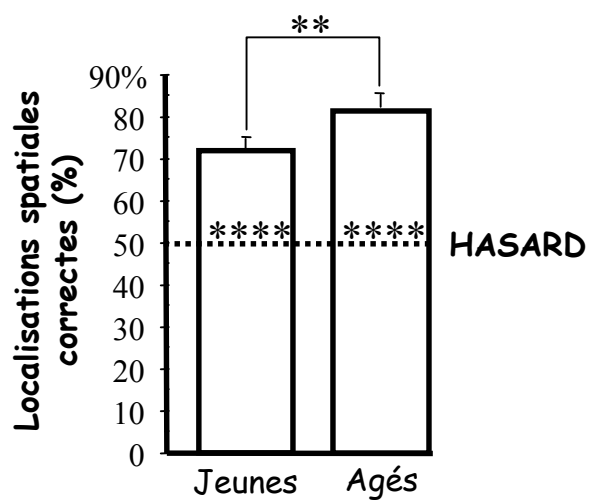


Figure VI.5: Effet du vieillissement sur l'apprentissage des localisations spatiales

$\pm 4.0$  et  $40.8 \pm 3.1$  réponses totales respectivement).

En résumé, les résultats de la phase d'acquisition indiquent que l'apprentissage de la 2<sup>ème</sup> discrimination est influencé par celui de la 1<sup>ère</sup>. En effet, lors de l'apprentissage de la 2<sup>ème</sup> discrimination, le trou interférent (appâté lors de l'acquisition précédente) n'est plus neutre et il est plus fréquemment visité que les autres trous non appâtés. Néanmoins, il reste moins visité que le trou appâté. L'âge ne modifie pas ce profil de visite.

En revanche, l'âge augmente l'activité exploratoire globale sur la 2<sup>ème</sup> acquisition par rapport à la 1<sup>ère</sup> et par rapport aux animaux Jeunes.

## **2. Effet de l'âge sur la restitution du principe général de l'exercice** (Cf. Figure VI.5)

L'analyse porte sur les « localisations spatiales correctes » chez les animaux Jeunes adultes (âgés de 5 à 6 mois) : Groupe JEUNE (N = 49) et chez les animaux Témoins des souris « Alcools » : Groupe AGES (N = 34). Le choc et le type d'interférence n'ayant aucun effet sur la restitution du principe général de l'expérience ( $F < 1.0$ ), les données des animaux discrimination 1 et 2, choqués et non choqués ont été regroupées.

Une analyse globale ANOVA factorielle indique un effet significatif du groupe ( $F(1,81) = 6.8$  ;  $p = 0.01$ ). Plus exactement, les animaux âgés ( $81.4 \pm 3.0\%$ ) effectuent significativement plus de « localisations spatiales correctes » que les animaux jeunes ( $71.8 \pm 2.2\%$ ). De plus, le pourcentage est significativement supérieur au hasard pour les deux groupes ( $t=9.7$  ;  $p < 0.0001$  pour les Jeunes et  $t=10.5$  ;  $p < 0.0001$  pour les Agés).

En résumé, les animaux âgés restituent mieux l'apprentissage spatial

général que les animaux jeunes même si ces derniers présentent d'excellentes performances.

### **3. Effet de l'alcoolisation chronique sur la restitution du principe général de l'exercice :**

L'analyse porte sur les « localisations spatiales correctes » chez les animaux alcoolisés : Groupe ALCOOL (N = 32) et chez les animaux Témoins des souris « Alcools » : Groupe TEMOIN (N = 34). Le choc et le type d'interférence n'ayant aucun effet sur la restitution du principe général de l'expérience ( $F < 1.0$ ), les données des animaux discriminations 1 et 2, choqués et non choqués ont été regroupées.

Une analyse globale ANOVA factorielle ne révèle aucun effet de l'alcoolisation chronique ( $F(1,64) = 2.4$  ;  $p = 0.13$ ). Les deux groupes présentent un pourcentage de « localisations spatiales correctes » significativement supérieur au hasard ( $t=20.9$  ;  $p < 0.0001$  pour le groupe ALCOOL et  $t=10.5$  ;  $p < 0.0001$  pour le groupe TEMOIN).

**En résumé, les résultats indiquent que l'alcoolisation chronique ne modifie pas la restitution de l'apprentissage général par rapport aux témoins.**

## **C. CONCLUSION DES RESULTATS COMPORTEMENTAUX**

### **1. Effets de l'âge**

Les données de la littérature s'accordent sur le fait que des défaillances mnésiques surviennent avec l'âge, aussi bien chez l'homme que chez le rongeur. Cependant, le vieillissement ne conduit pas à un déclin généralisé des fonctions cognitives et mnésiques, mais altère sélectivement certaines facultés alors que d'autres sont préservées. Ainsi, chez l'homme certains auteurs montrent que le vieillissement s'accompagne d'une perturbation des performances dans des



épreuves de rappel explicite alors que les performances dans des épreuves dites implicites sont intactes (McIntyre et Craik, 1987 ; Jennings et Jacoby, 1993 ; Moscovitch et Winocur, 1995 ; Golomb et al, 1996 ; Fabiani et Friedman, 1997). De même, chez le rongeur, le vieillissement est associé à des perturbations cognitives et mnésiques sélectives (Marighetto et al, 1999). En général, les animaux âgés sont perturbés dans des tâches mettant en jeu la mémoire relationnelle, notamment dans les épreuves spatiales, alors qu'ils présentent des performances comparables aux jeunes dans des épreuves basées sur des associations simples, particulièrement quand les informations à traiter n'ont aucune composante spatiale (Barnes et al, 1987 ; Gallagher et Pelley, 1988a, 1988b).

Dans notre épreuve, les résultats indiquent que la phase d'acquisition n'est globalement pas affectée par le vieillissement. Le profil de visites des animaux âgés est comparable à celui des animaux jeunes. L'activité exploratoire n'est pas réduite chez les animaux âgés par rapport aux jeunes. En revanche, les performances sont sensibles à l'effet de l'âge puisqu'en conditions normales (sans stress), les animaux âgés répondent au hasard aux deux discriminations, ce qui n'est pas le cas des jeunes qui présentent de bonnes performances pour la première discrimination et sont au hasard seulement sur la seconde discrimination. De plus, nos données montrent que les souris âgées sont parfaitement capables d'acquérir et de restituer l'apprentissage spatial général de l'expérience c'est à dire retrouver les localisations spatiales des 2 trous appâtés lors de l'acquisition. Ainsi, nos données confirment la sélectivité des troubles mnésiques de l'animal âgé : certaines informations sont oubliées, d'autres sont conservées. Voici quelques hypothèses (ne s'excluant pas mutuellement) qui pourraient rendre compte de cette dichotomie chez les animaux âgés.

a. Mémoire de la source/Mémoire de l'événement ? (Mc Intyre et Craik, 1987 ; Schacter et al, 1991 ; Spencer et Raz, 1995)

Nous avons vu dans le chapitre IV que les animaux jeunes répondent en fonction de l'ordre sériel lorsqu'ils n'ont pas subi de stress préalable. Les animaux âgés, quant à eux, ne semblent pas répondre en fonction de l'ordre sériel puisqu'ils restituent indifféremment et au hasard la première et la seconde discrimination. Peut être les animaux âgés souffrent-ils de difficultés à indexer ou à restituer spontanément l'ordre temporel des événements. En revanche, nos données montrent que les souris âgées sont parfaitement capables d'acquérir et de restituer l'apprentissage spatial général de l'expérience c'est à dire retrouver les localisations spatiales des 2 trous appâtés lors de l'acquisition. Le choc électrique n'a aucun effet chez les animaux âgés qui continuent à répondre au hasard à chacune des deux discriminations respectivement et parallèlement, présentent toujours d'excellentes performances lorsqu'on considère la restitution de l'apprentissage général (localisations spatiales) de l'expérience. A l'inverse, nous avons vu dans le chapitre IV que les animaux jeunes sont sensibles au choc électrique qui inverse l'ordre de restitution spontanée. Cette inversion, chez les jeunes, ne se produit que lorsque l'apprentissage des deux informations s'est déroulé dans deux contextes différents mais non lorsque les deux apprentissages ont lieu dans le même contexte. Ce résultat indique que l'effet du choc dépend strictement de la prise en compte des éléments contextuels ou plus exactement de la prise en compte d'un changement de contexte. L'absence d'effet du choc électrique chez les animaux âgés suggère que ces derniers ne prennent pas en compte ou ne restituent pas les éléments contextuels de l'expérience. Chez le rat, Oler et Markus (2000a, 2000b) obtiennent des résultats similaires et montrent que le vieillissement s'accompagne d'un déficit de la capacité à encoder les changements contextuels ; les auteurs attribuent ce

déficit à un dysfonctionnement hippocampique. Il est possible que l'absence d'utilisation des éléments contextuels chez nos animaux âgés reflète en réalité une réduction de l'acuité visuelle les mettant dans l'incapacité de distinguer les 2 contextes différents. Cela dit, c'est une hypothèse que nous avons formulée préalablement à toutes nos expériences puisque nous travaillons avec des souris albinos pouvant présenter des défauts de vision (Creel, 1979) et avec des animaux alcoolisés ou âgés susceptibles de présenter des déficits de nature comparable. Pour prévenir ce risque, les deux contextes ne diffèrent pas seulement par la couleur mais également par la texture, l'un est rugueux, l'autre est lisse. Bien que cette précaution ne garantisse pas d'un éventuel affaiblissement de la sensibilité tactile (éventualité non confirmée par la littérature à notre connaissance), elle offre tout de même une certaine sécurité. Ainsi, il semble que les animaux âgés présentent un déficit d'indexation, de mémorisation ou de restitution du contexte général de l'expérience au sens large, c'est à dire des attributs contextuels et temporels associés à la discrimination spécifique, alors même que l'information proprement dite est parfaitement retenue (localisation spatiale). Ce résultat peut être mis en relation avec certaines données relatives à l'étude du vieillissement normal ou de la lésion frontale chez l'homme. On admet en général que les performances mnésiques déclinent au cours du vieillissement et que ce déclin n'est pas global mais présente au contraire une certaine sélectivité (Eustache et al, 1995). Ainsi chez le sujet âgé, les performances sont préservées dans certaines épreuves mnésiques et sont altérées dans d'autres. Les changements neurobiologiques liés à l'âge sont multiples et complexes, mais les études de patients porteurs de lésions ainsi que les études récentes d'imagerie chez des sujets âgés, impliquent la région frontale (dont le cortex préfrontal) et son hypo-fonctionnement dans les déficits mnésiques. Ainsi, la lésion frontale comme le vieillissement induisent

chez l'homme, une diminution des performances dans des épreuves impliquant le rappel et l'organisation d'informations contextuelles, telles que l'environnement spatial, temporel ou le contexte dans lequel un item a initialement été acquis. Plus précisément, les sujets âgés présentent des difficultés à se souvenir du contexte dans lequel un événement a eu lieu (mémoire de la source) alors même qu'ils sont capables de restituer l'événement lui-même (Craik et al, 1990 ; Spencer et Raz, 1994). Les performances dans des épreuves telles que la reconnaissance, n'impliquant que la restitution du seul fait, ne sont pas ou peu perturbées par le vieillissement (Moscovitch et Winocur, 1992 ; Fabiani et Friedman, 1997). En outre, de nombreuses données mentionnent un déclin de la mémorisation de l'ordre temporel chez le sujet âgé (Kausler et al, 1988 ; Fabiani et Friedman, 1997). Chez l'animal et plus particulièrement chez le singe, Rapp et Amaral (1989) aboutissent au même type de résultat, à savoir une préservation de la reconnaissance d'objet parallèlement à une perturbation de la restitution de l'ordre temporel chez les animaux âgés, ce profil de résultats étant attribué à l'atteinte du cortex préfrontal. Nos résultats comportementaux semblent particulièrement cohérents avec les données précédentes, d'autant plus que l'étude neurobiologique fait état d'une baisse significative de l'intensité du marquage Fos dans de nombreuses structures cérébrales dont le cortex préfrontal.

Le fait que la mémorisation de la localisation spatiale des trous renforcés soit préservée chez les animaux âgés peut être liée à la répétition lors de l'acquisition. Nous avons vu en effet que lors du 2<sup>ème</sup> apprentissage, les animaux explorent beaucoup plus le trou renforcé de la première acquisition que les 2 trous non renforcés. En outre, cette « ré-exploration » sans renforcement n'entraîne pas une extinction mais au contraire une consolidation de l'apprentissage. Cette répétition permettrait une plus grande stabilité et solidité

des informations apprises et diminuerait leur vulnérabilité aux effets délétères liés au vieillissement. Cette hypothèse est d'ailleurs confortée par les résultats obtenus chez les jeunes puisque le choc électrique modifie le profil des performances spécifiques mais n'affecte pas les performances générales (localisations spatiales), suggérant que l'apprentissage spécifique (impliquant l'ordre temporel et l'indexation de chaque discrimination à un contexte spécifique) est plus vulnérable à l'effet du stress que ne l'est l'apprentissage général. Ainsi, l'absence d'effet du stress chez les animaux âgés peut être lié au fait que ces animaux ne réalisent pas l'apprentissage et/ou la restitution des informations (contextuelles et sérielles) sensibles à l'effet du stress chez les jeunes. Ils réalisent uniquement l'apprentissage des localisations spatiales qui n'est, quant à lui, pas sensible à l'effet du stress chez les jeunes.

#### b. Mémoire contextualisée/ Mémoire décontextualisée ?

Nos données indiquent que contrairement aux jeunes, les animaux âgés ne sont pas capables de restituer l'apprentissage spécifique, c'est à dire pourvu de ses attributs contextuels et/ou temporels. En revanche, ils restituent très bien et même mieux que les jeunes l'apprentissage général de l'expérience. Ils ont donc appris quelque chose qui pourrait constituer pour eux une sorte de connaissance générale décontextualisée de type « *il y a de la nourriture dans ces deux trous et il n'y a pas de nourriture dans ces deux trous* ». En revanche, l'information dépendante de ses attributs contextuels et temporels « *il y avait de la nourriture dans ce trou en premier et/ou dans ce contexte spécifique n'est pas restituée ce qui pourrait refléter la défaillance d'une autre forme de mémoire (de type mémoire épisodique).*

### c. Variances/Invariances ?

On peut également faire l'hypothèse que les animaux âgés répondent uniquement aux informations invariantes, c'est à dire qu'ils apprennent à éviter systématiquement les localisations spatiales associées aux deux trous jamais renforcés. Par élimination, ils explorent indifféremment les localisations spatiales associées aux deux trous renforcés. Les jeunes, parallèlement au traitement de l'invariance, seraient capables de répondre de façon spécifique aux informations variant par leurs composantes contextuelle et/ou temporelle « *ce trou est renforcé en premier et/ou ce trou est renforcé dans ce contexte* ». Ainsi, l'apprentissage général de l'expérience basé sur l'invariance des trous faux serait préservé chez les animaux âgés, qui répondent même mieux que les jeunes, alors que ce qui constitue le caractère unique de chaque information (sa position dans la série et/ou le contexte dans lequel elle a lieu) c'est à dire sa variance, n'est pas prise en compte chez les animaux âgés. L'apprentissage d'informations invariantes et l'apprentissage d'informations variantes, du fait de leur nature opposée, ne peuvent pas reposer sur le même système de mémoire. En effet, Sherry et Schacter (1987) avancent que les aptitudes à apprendre et à mémoriser sont des adaptations spécialisées, et sélectionnées par l'évolution pour résoudre des problèmes spécifiques posés par l'environnement de l'animal. En outre, ces auteurs expliquent qu'une adaptation qui sert une fonction ne peut pas, à cause de sa spécialisation, servir de façon effective une autre fonction, ce que les auteurs appellent « l'incompatibilité fonctionnelle ». Ainsi, nous pouvons formuler l'hypothèse selon laquelle les souris âgées souffriraient d'une atteinte fonctionnelle du système sous-tendant le traitement des informations variantes (peut être « hippocampe-dépendant ») alors que le système sous-tendant le traitement des informations invariantes serait préservé. Cette hypothèse présente l'avantage d'expliquer la facilitation

mnésique paradoxale observée chez les animaux âgés sur les performances globales. En effet, en se plaçant dans le cadre de la théorie sur l'interaction entre différentes formes de mémoire développée par Jaffard et Meunier (1993), l'existence de deux systèmes présentant des caractéristiques fondamentales opposées (traitement de la variance versus traitement de l'invariance) pourraient être source de conflit et divers résultats expérimentaux conduisent ces auteurs à proposer que ces deux systèmes peuvent s'inhiber l'un l'autre, lorsqu'ils sont intacts. La lésion d'un système I entraîne d'une part, une perturbation mnésique pour les tâches dépendantes de ce système et d'autre part, une abolition de l'action inhibitrice du système I sur le ou les autres systèmes (II, III..., X) ce qui se traduit par une facilitation mnésique dans les tâches reposant sur ces derniers systèmes. Dans notre épreuve, les animaux âgés présenteraient une atteinte fonctionnelle du système traitant la variance qui se traduit d'une part, par la perturbation des processus nécessitant le traitement de la variance (apprentissage temporel et/ou contextuel spécifique) et d'autre part, par la facilitation des processus sous-tendant le traitement de l'invariance (apprentissage général de type spatial). En fait, les animaux âgés souffriraient d'une incapacité à sérier les informations et/ou à utiliser le contexte, caractéristiques impliquant une flexibilité cognitive perdue ou amoindrie lors du vieillissement. Pour pallier ce déficit de flexibilité, les animaux âgés « schématiseraient » la tâche pour y répondre, en la réduisant à une configuration simple : les « zones à éviter » versus les « zones à explorer ».

#### d. Sensibilité aux interférences et difficulté à exprimer un choix ?

Les animaux âgés présentent des taux de réponses correctes et d'interférences comparables quelle que soit la discrimination ou la condition de stress. Leur comportement semble donc traduire une confusion entre les deux types d'information. Ainsi, le déficit des animaux âgés pourrait être interprété

en terme de sensibilité accrue aux interférences proactives et rétroactives par rapport aux animaux jeunes ou traduire une incapacité à exprimer un choix entre deux informations. A l'appui de l'hypothèse d'une sensibilité exagérée aux interférences, Rabbitt et al (1965) montre chez l'homme, que la capacité à ignorer les informations non pertinentes décroît au cours du vieillissement et Winocur (1988) met en évidence une sensibilité exagérée aux interférences chez le rat. Concernant la difficulté à exprimer un choix, Marighetto et al, (1999) montrent chez la souris âgée, un déficit mnésique lorsque les animaux sont confrontés à une situation impliquant un choix (discrimination simultanée), alors qu'ils présentent des performances comparables aux jeunes lorsque les discriminations sont présentées successivement (Go/No-Go). Toutefois, dans notre expérience, les animaux âgés n'émettent pas davantage de réponses fausses que les jeunes et ils évitent les deux trous faux non pertinents. Il semble donc que la capacité à ignorer les informations non pertinentes ne soit pas altérée. De même, les animaux âgés semblent capables de choisir les deux trous préalablement appâtés parmi les 4 trous se trouvant à leur disposition, donc leur faculté générale à exprimer un choix ne semble pas affectée.

#### e. Stratégie

Les différences de performances entre les animaux âgés et les animaux jeunes pourraient refléter l'utilisation de stratégies différentes pour résoudre la tâche. Ainsi, la mise en œuvre d'une stratégie différente, constituant un processus compensatoire à l'affaiblissement d'un système de mémoire donné chez les animaux âgés, pourrait être responsable du profil comportemental observé chez ces animaux. Kubo et al (2001) montrent ainsi que des singes âgés compensent certains déficits cognitifs en mettant en œuvre une stratégie comportementale différente des singes jeunes.



### f. Mémoire spatiale

Les études chez l'animal âgé relatent très généralement un déficit de mémoire spatiale associé sur le plan neurobiologique à une atteinte hippocampique (Gage et al, 1984a, 1984b ; Gallagher et Pellemounter ; 1988 ; Gallagher et al, 1993 ; Frick et al, 1995). Nos résultats ne semblent pas mettre en évidence un tel déficit chez les animaux âgés puisqu'ils retrouvent sans difficultés les localisations spatiales des deux trous renforcés. Certaines études, en utilisant une procédure comportementale particulière dite « Differential Outcomes Procedure » (DOP), abolissent le déficit de mémoire spatiale des animaux âgés (Savage et al, 1999). Selon ces auteurs, cette procédure comportementale aurait pour effet de réduire la composante explicite de l'épreuve et d'accroître ses caractéristiques implicites. Les processus implicites étant moins vulnérables aux effets du vieillissement que les processus explicites (Squire, 1992 ; Golomb et al, 1996), les animaux âgés présentent, dans cette épreuve, des performances de mémoire spatiale comparables aux jeunes. Ainsi, notre épreuve pourrait solliciter des processus plutôt implicites concernant l'aspect spatial (préservé), alors que l'ordre temporel et le traitement du contexte en seraient la composante explicite (perturbée). Cependant, nous ne pouvons pas exclure que les animaux utilisent une stratégie de type guidage pour retrouver les emplacements associés aux renforcements. Par ailleurs, l'absence de déficit spatial dans notre épreuve pourrait être liée à l'âge des souris utilisées qui sont relativement plus jeunes (17-18 mois) que les animaux habituellement utilisés pour les études sur le vieillissement (22-23 mois).

g. perturbations du fonctionnement de l'axe corticotrope

L'absence d'effet du choc électrique chez les animaux âgés peut être liée à un dysfonctionnement de l'axe corticotrope. En effet, de nombreuses études indiquent que le vieillissement normal s'accompagne d'altérations de la réponse neuroendocrinienne aux stress psychologiques ou physiques. Le vieillissement est en général caractérisé par une activation excessive de l'axe corticotrope, une hypersécrétion neurotoxique de glucocorticoïdes ainsi qu'une réduction du rétrocontrôle inhibiteur des glucocorticoïdes sur l'axe corticotrope favorisant encore l'hyper-activation de l'axe corticotrope. Les neurones de l'hippocampe sont particulièrement sensibles à l'effet neurotoxique des glucocorticoïdes, et leur vulnérabilité se traduit par une atrophie dendritique importante entraînant des déficits d'apprentissage et de mémoire (Sapolsky, 1985, Sapolsky et al, 1990). On admet que les animaux jeunes répondent au stimulus stressant de façon adaptée, afin de rétablir l'homéostasie, et revenir à un état interne physiologique. Le caractère adaptatif de cette réponse se manifeste, au niveau comportemental, par la modulation des performances mnésiques telle qu'on l'a observée dans le chapitre IV. L'absence totale de réponse au stress au niveau comportemental, chez les animaux âgés, pourrait refléter, une incapacité à rétablir l'homéostasie, à revenir à un état interne physiologique, conduisant à la désadaptation. Nous avons effectué une expérience (*non décrite ici*) visant à évaluer l'activation de l'axe corticotrope chez les animaux âgés et alcoolisés par rapport à des jeunes, en dosant les concentrations de corticostérone plasmatique basale et en réponse au stress. Les résultats, portant sur des effectifs faibles (N=3) n'ont pas permis d'établir une différence significative entre les groupes. Cette expérience doit être reprise afin de vérifier s'il existe bien chez les animaux âgés une activation excessive de l'axe corticotrope susceptible d'expliquer l'absence d'effet du choc électrique sur la restitution

chez ces animaux.

## 2. Effets de l'alcoolisation chronique

En condition normale, les animaux alcoolisés présentent de bonnes performances sur la 1<sup>ère</sup> discrimination alors qu'ils répondent au hasard sur la 2<sup>ème</sup> discrimination. Parallèlement, ils présentent un fort taux d'interférences proactives (légèrement plus élevé que chez les témoins âgés et que chez les jeunes) et un taux faible d'interférences rétroactives. Le choc électrique améliore significativement leurs performances sur la 2<sup>ème</sup> discrimination et réduit significativement l'interférence proactive alors qu'il est sans effet sur la 1<sup>ère</sup> discrimination et l'interférence rétroactive.

Nos résultats montrent que le profil comportemental des animaux alcoolisés est plus proche de celui des jeunes que de leurs témoins « âgés » (en fait, du même âge que les animaux « alcools »). Il semble donc que l'alcoolisation chronique compense certains effets délétères du vieillissement (concernant notamment l'ordre sériel). On note cependant, chez les animaux alcoolisés, une sensibilité à l'interférence proactive légèrement plus importante que chez les animaux jeunes ou témoins âgés. Une sensibilité exagérée aux interférences proactives, dénotant d'un trouble du jugement de la récence relative des informations chez les animaux alcoolisés, a déjà été mise en évidence au laboratoire dans une épreuve d'alternance séquentielle (Béracochéa et al, 1987 ; Tako et al, 1991 ; Célérier et al, 2000). Chez l'homme, on retrouve également ce résultat, reflétant l'effet perturbateur du souvenir d'expériences anciennes sur une expérience plus récente, effet perturbateur d'ailleurs plus prégnant si la situation comporte une composante spatiale (Smith et al, 1995). L'oubli par excès d'interférence est souvent interprété comme résultant d'un trouble au moment de l'encodage des informations (Shapiro et Olton ; 1996). Or, il semble que dans

notre épreuve, l'interférence ne soit pas liée à un encodage déficitaire mais porte spécifiquement sur la phase de rappel. En effet, l'application d'un choc électrique juste avant l'essai de rétention réduit l'interférence proactive et permet l'expression de la réponse correcte, qui a donc été parfaitement encodée et consolidée.

De fait, des expériences réalisées au laboratoire ont montré que la sensibilité exagérée aux interférences dans l'épreuve d'alternance séquentielle chez les animaux alcoolisés traduisait en réalité un trouble sélectif de la phase de restitution mnésique (Béracochéa et al, 1987, 1989).

**Nos données suggèrent que les animaux alcoolisés présentent un léger trouble du jugement d'ordre sériel caractérisé par une perturbation du jugement de récurrence (accroissement de l'interférence proactive). Malgré ce léger déficit, les animaux alcoolisés, dans les conditions sans stress, sont capables de répondre en fonction de l'ordre sériel contrairement à leurs témoins âgés.**

Le choc améliore la restitution de la seconde discrimination, réduit le pourcentage d'interférences proactives sans modifier la restitution de la première discrimination. Ainsi, le choc électrique produit le même effet facilitateur sur la seconde discrimination chez les animaux alcoolisés et chez les animaux jeunes alors qu'il est sans effet chez les témoins âgés.

**Ce résultat suggère que le traitement des éléments contextuels n'est pas altéré chez les souris alcoolisées contrairement aux témoins âgés, et donc que la consommation chronique d'alcool s'oppose aux effets délétères du vieillissement sur la prise en compte du contexte.**

En revanche, l'inhibition de la restitution de la première discrimination par augmentation de l'interférence rétroactive observée chez les jeunes, n'est pas reproduite chez les animaux alcoolisés qui présentent un taux faible d'interférence rétroactive. Le déficit de jugement de récence des animaux alcoolisés pourrait rendre compte de cette observation. Ainsi, il semble que l'alcoolisation chronique perturbe l'influence des informations relatives aux éléments contextuels sur les informations relatives à l'ordre sériel. Plus précisément, on a vu que chez les jeunes, sans stress, l'ordre sériel des informations est pris en compte mais pas (ou peu) les éléments contextuels associés à l'information. Avec le choc électrique, les éléments contextuels deviennent prépondérants et modifient l'ordre sériel initial. Ainsi, il semble que l'augmentation de la « référence » aux éléments contextuels pour réaliser la restitution s'accompagne d'une modification de la « référence » à l'ordre sériel. Ce n'est plus l'ordre sériel initial qui s'exprime chez les jeunes mais l'ordre sériel inverse. Ainsi, chez les Jeunes, la facilitation de la récence (dépendante du contexte) s'accompagne ipso facto de l'inhibition des informations plus anciennes. Sans stress, les animaux alcoolisés présentent quasiment le même profil que les Jeunes, c'est à dire qu'ils répondent préférentiellement à l'information la plus ancienne. La prépondérance de cette réponse, comme on l'a vu précédemment, est due à une répétition de cet apprentissage qui rend la première information plus saillante que la seconde. Le trouble du jugement de récence des animaux alcoolisés est peu visible dans ces conditions (sans stress), soit parce qu'il est relativement léger, soit parce que les conditions expérimentales ne permettent pas de l'objectiver. En effet, même chez les animaux normaux, les performances portant sur l'information récente sont très faibles. Les animaux alcoolisés présentent toutefois des performances pour la seconde discrimination légèrement inférieures et un taux d'interférence proactives sensiblement plus

élevé que les jeunes, ce qui suggère malgré tout un trouble léger du jugement de récence comme nous l'avons précisé plus haut. Dans la condition de stress, les animaux alcoolisés comme les animaux jeunes sont capables d'utiliser les indices contextuels, ce qui a pour effet de faciliter la restitution des éléments contextuels associés à l'information la plus récente. Chez les jeunes, cette facilitation est réellement une facilitation du jugement de récence puisqu'elle s'accompagne ipso facto de l'inhibition de la discrimination la plus ancienne. En revanche, chez les animaux alcoolisés, ce n'est pas une facilitation de la récence à proprement parlé puisqu'elle ne se fait pas au détriment de l'information plus ancienne. Ainsi, le choc semble accentuer le déficit de jugement temporel (relativement léger en conditions sans stress). Pour ces animaux, le choc facilite la prise en compte des éléments contextuels indépendamment de l'ordre sériel dans lequel ils ont été appris. Ainsi, les animaux alcoolisés répondent uniquement en fonction des éléments contextuels pour les deux discriminations, sans se référer à un ordre sériel, ce qui explique le taux élevé de réponses correctes dans les deux cas. En d'autres termes, les animaux jeunes indexent les éléments contextuels à l'ordre sériel dans lequel ils ont été présentés. L'apprentissage des localisations spatiales et de leurs attributs contextuels et temporels forment une conjonction cohérente, où les différents attributs de l'information sont mis en relations les uns avec les autres et s'influencent mutuellement. En revanche, les animaux alcoolisés ne sont pas capables d'indexer les éléments contextuels à leur ordre sériel (du moins dans la condition "avec stress"), ils présentent une perturbation de l'ordre sériel qui se caractérise par l'absence d'interférence rétroactive (l'information récente n'influence pas l'information plus ancienne). Les animaux alcoolisés répondent alors en utilisant uniquement les éléments contextuels pour chacune des deux discriminations. Pour ce groupe d'animaux, les informations d'ordre sériel ne sont pas mises en relation avec les

attributs spatiaux et contextuels des informations, et il n'existe pas d'influences mutuelles. Cette hypothèse suggère que les animaux alcoolisés présentent un déficit d'organisation sérielle (temporelle) des événements et utilisent uniquement la mémoire contextuelle (pour compenser le trouble temporel) ce qui les conduit à répondre aussi bien à la première discrimination (qui n'est pas oublié) qu'à la seconde.

Enfin, les animaux soumis à la procédure d'alcoolisation chronique ne présentent pas les perturbations mnésiques observées chez les témoins du même âge. L'alcoolisation chronique modifie donc l'impact du vieillissement sur les fonctions cognitives. Il semble même que l'alcoolisation chronique préserve certaines des capacités cognitives qui se trouvent altérées chez les animaux âgés (notamment la prise en compte des éléments contextuels). Les effets différents du vieillissement et du vieillissement sous alcoolisation chronique sur le plan cognitif sont certainement à mettre en relation avec des atteintes neurobiologiques différentes. (voir également Krazem et al, en préparation).

Par ailleurs, l'effet de l'alcoolisation chronique se caractérise par une absence d'inhibition de la première discrimination sur la seconde. Cette disparition des processus inhibiteurs rappelle (avec toute la prudence qui s'impose) le phénomène de fabulations classiquement observé chez les patients souffrants d'un syndrome de Korsakoff. La présence de fabulations, souvenirs anciens ou récents anarchiquement rappelés, illustre l'absence de contrôle des processus de rappel qui s'accompagne d'une perturbation de l'organisation des souvenirs et du contexte spatio-temporel dans lequel il se place et serait liée à un dysfonctionnement du cortex préfrontal. La disparition des processus inhibiteurs pourrait également refléter un dysfonctionnement des systèmes GABA/BDZ. En effet, la voie Gabaergique est la principale neurotransmission

inhibitrice du système nerveux central et joue à ce titre, un rôle important dans le contrôle inhibiteur des circuits neuronaux. De plus l'implication de cette voie dans les processus mnésiques n'est plus à prouver. Des études montrent que la consommation prolongée d'alcool modifie la densité et/ou l'affinité des récepteurs GABA/BDZ centraux (Rottemberg, 1985 ; Freund et Ballinger, 1988). Par ailleurs on observe une densité très élevée de ce type de récepteurs dans les structures de la voie mamillo-thalamo-cingulaire (Eymin et al, 1992) préférentiellement touchée dans le syndrome de Korsakoff. Dans notre expérience, l'atteinte du système Gabaergique chez les animaux alcoolisés aurait pour effet de réduire le contrôle inhibiteur sur certains circuits neuronaux impliqués dans la tâche et pourrait se traduire par la levée d'inhibition que nous observons sur le plan comportemental.

## **II. ETUDE IMMUNOHISTOCHIMIQUE**

Nous avons associé l'étude comportementale à une étude immunohistochimique visant à caractériser les substrats neurobiologiques affectés par l'alcoolisation chronique et impliqués dans l'épreuve.

Plus précisément, nous avons étudié l'expression de la protéine Fos en fonction du traitement (Alcoolisation chronique versus Témoin) du type d'interférence (proactive ou rétroactive) et en fonction du choc (choqués ou non choqués) dans l'épreuve de DSCS pour le délai de rétention de 24 heures.

### **A. PROCEDURE EXPERIMENTALE**

#### **1. Protocole**

Cf. chapitre II



## Effet de l'alcoolisation chronique sur l'expression de la protéine Fos

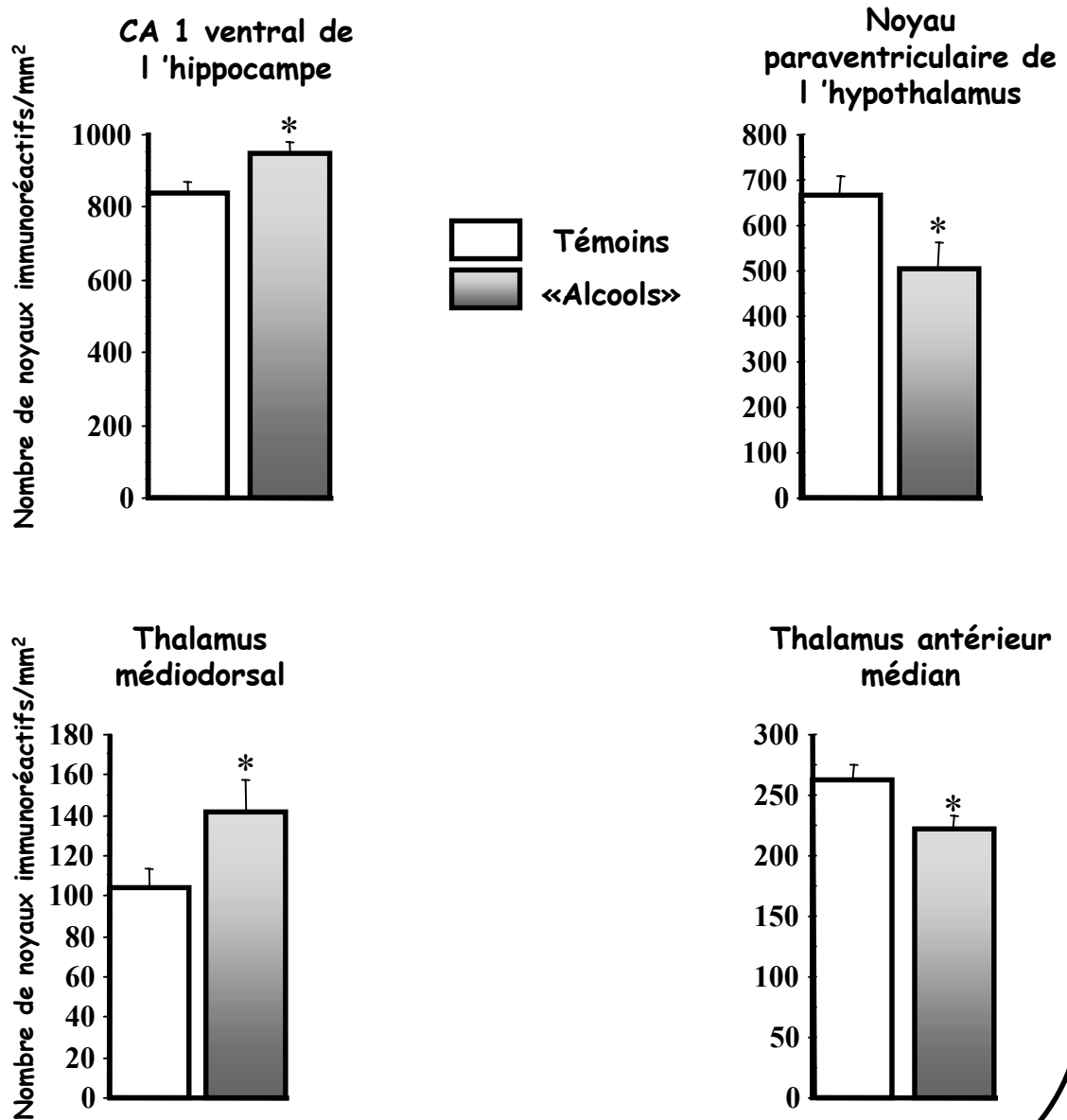


Figure VI.6: Effet de l'alcoolisation chronique sur l'expression de la protéine Fos

## 2. Constitution des groupes :

TRAITEMENT	CONDITION	DISCRIMINATION	EFFECTIF
ALCOOLISATION CHRONIQUE	Non Choqués	Discr1 (interférence rétroactive)	N=4
		Discr2 (interférence proactive)	N=4
	Choqués	Discr1 (interférence rétroactive)	N=4
		Discr2 (interférence proactive)	N=4
TEMOINS	Non Choqués	Discr1 (interférence rétroactive)	N=7
		Discr2 (interférence proactive)	N=7
	Choqués	Discr1 (interférence rétroactive)	N=5
		Discr2 (interférence proactive)	N=6

## B. RESULTATS

Nous avons réalisé une analyse globale ANOVA à 3 facteurs (Traitement, type d'interférence et choc) suivie d'un test post hoc (Bonferroni/Dunn). Par soucis de clarté, nous présenterons successivement et séparément les structures cérébrales sensibles au traitement, les structures sensibles à l'effet du choc, les structures sensibles au type d'interférence et enfin les structures pour lesquelles l'interaction entre plusieurs facteurs est significative.

### 1. Effet de l'alcoolisation chronique sur l'expression de la protéine Fos (Cf. Figure VI.6)

STRUCTURES	GROUPE (Traitement)	MOYENNE ± SEM Nombre de noyaux immunoréactifs/mm <sup>2</sup>	Valeur de F et p
CA 1 ventral	Alcools (N=16)	949 ± 29	F <sub>1,40</sub> = 6.5 p = 0.015
	Témoins (N=26)	838 ± 29	
Thalamus antérieur médié	Alcools	221 ± 12	F <sub>1,40</sub> = 4.5 p = 0.04
	Témoins	262 ± 13	
Thalamus médiodorsal	Alcools	141 ± 16	F <sub>1,40</sub> = 4.7 p = 0.035
	Témoins	104 ± 10	
NPV de l'hypothalamus	Alcools	504 ± 57	F <sub>1,40</sub> = 5.25 p = 0.03
	Témoins	666 ± 43	

Les résultats indiquent que les animaux « Alcools » présentent un marquage

## Effet du choc électrique sur l'expression de la protéine Fos

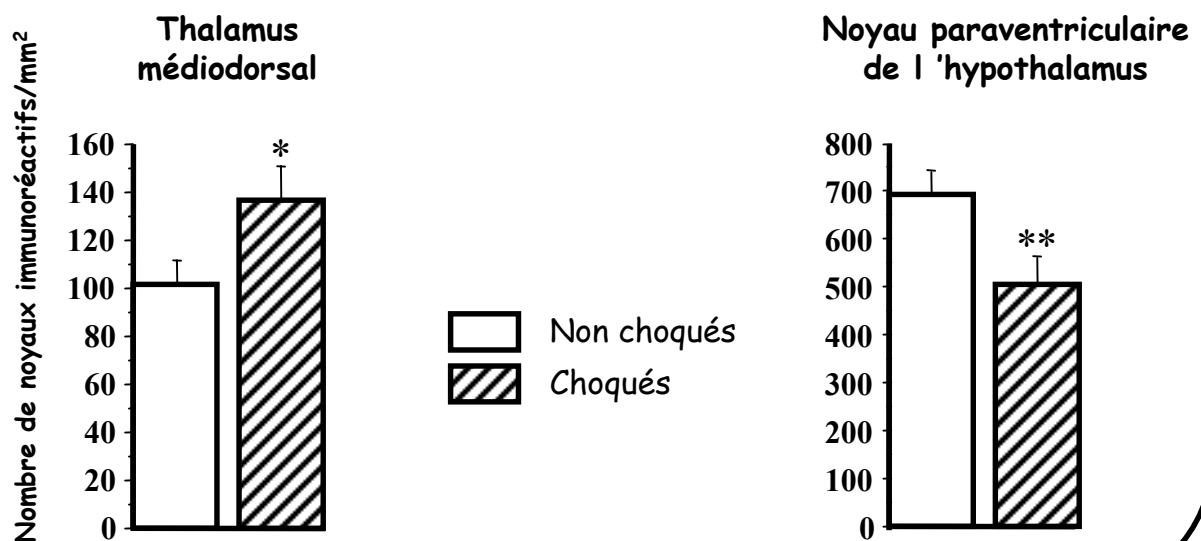


Figure VI.7: Effet du choc électrique sur l'expression de la protéine Fos

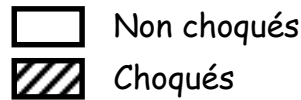
immunohistochimique plus important dans le CA 1 ventral de l'hippocampe et le thalamus médiodorsal comparativement à leurs témoins. En revanche, ces mêmes animaux expriment moins de protéine Fos que leurs témoins dans le thalamus antérieur médian et le noyau paraventriculaire de l'hypothalamus.

## 2. Effet du choc sur l'expression de la protéine Fos (Cf. Figure VI.7)

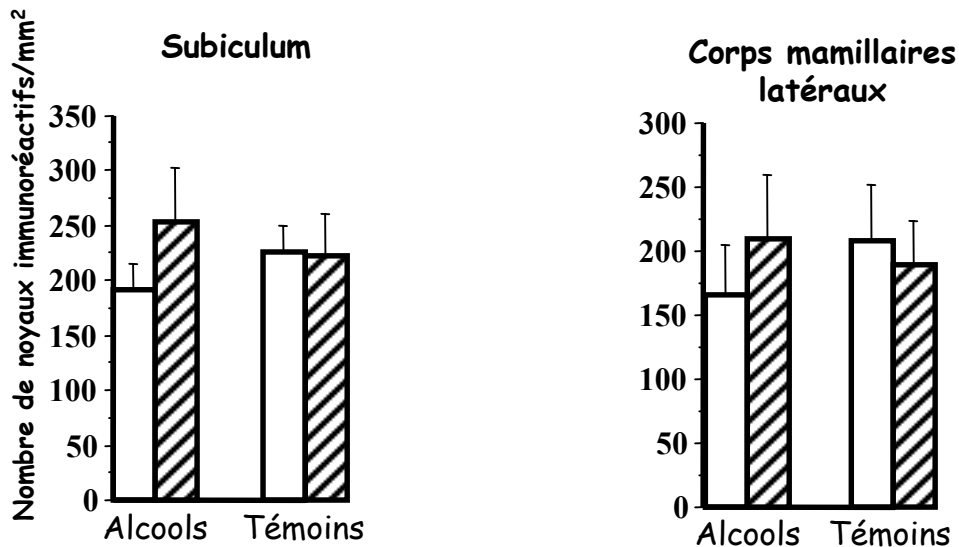
STRUCTURES	GROUPE (Choqués versus Non choqués)	MOYENNE $\pm$ SEM Nombre de noyaux immunoréactifs/mm <sup>2</sup>	Valeur de F et p
Thalamus médiodorsal	Non Choqués (N=22)	102 $\pm$ 10	F <sub>1,40</sub> = 4.3 p = 0.045
	Choqués (N=20)	137 $\pm$ 14	
NPV de l'hypothalamus	Non Choqués	693 $\pm$ 44	F <sub>1,40</sub> = 7.8 p = 0.008
	Choqués	506 $\pm$ 51	

Les résultats indiquent que le choc électrique s'accompagne d'une augmentation d'expression de la protéine Fos dans le thalamus médiodorsal et d'une réduction de l'expression de la protéine Fos dans le noyau paraventriculaire de l'hypothalamus.

# Effet du choc électrique en fonction du type d'interférence et en fonction du traitement sur l'expression de la protéine Fos



## ☒ Situation d'interférence rétroactive



## ☒ Situation d'interférence proactive

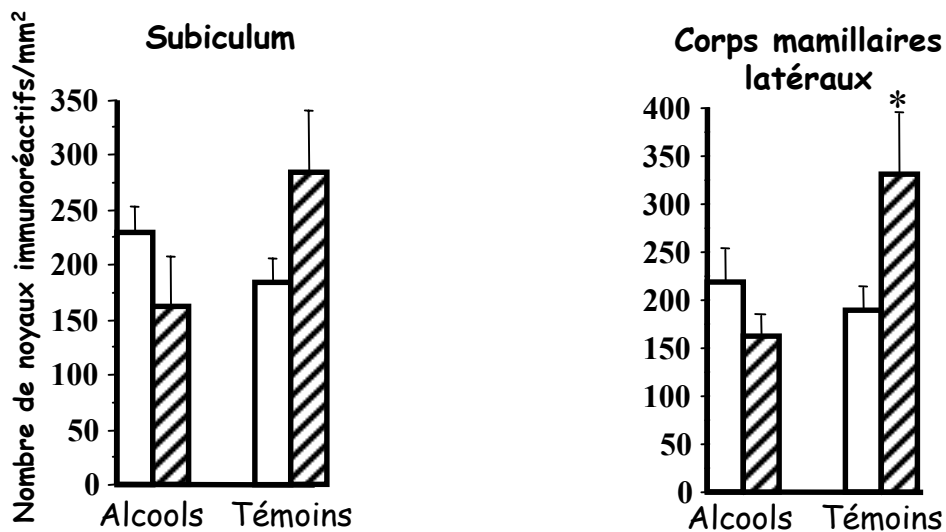


Figure VI.8: Effet du choc électrique en fonction du type d'interférence et du traitement sur l'expression de la protéine Fos

**3. effet du choc électrique en fonction du type d'interférence et en fonction du traitement sur le marquage immunohistochimique (Interaction Traitement X Condition X Type d'interférence) (Cf. Figure VI.8)**

STRUCTURE	TRAITEMENT	CONDITION	INTERFERENCE	MOYENNE ± SEM Nombre de noyaux immunoréactifs/mm <sup>2</sup>	Valeur F et p
Subiculum	Alcools	Non choqués	Rétroactive (n=4)	192 ± 22	F <sub>1,34</sub> = 4.7 p = 0.04
			Proactive (n=4)	230 ± 24	
		Choqués	Rétroactive (n=4)	254 ± 48	
			Proactive (n=4)	163 ± 44	
	Témoins	Non choqués	Rétroactive (n=7)	225 ± 25	
			Proactive (n=7)	184 ± 21	
		Choqués	Rétroactive (n=6)	222 ± 38	
			Proactive (n=6)	285 ± 55	
Corps mamillaires latéraux	Alcools	Non choqués	rétroactive	165 ± 40	F <sub>1,34</sub> = 4.6 p = 0.04
			proactive	220 ± 30	
		Choqués	rétroactive	209 ± 51	
			proactive	163 ± 19	
	Témoins	Non choqués	rétroactive	208 ± 43	
			proactive	189 ± 22	
		Choqués	rétroactive	189 ± 35	
			proactive	330 ± 61	

Dans le subiculum (S) et les corps mamillaires latéraux (CML), la triple interaction Traitement X Condition X Type d'interférence est significative. Plus précisément, en situation d'interférence rétroactive (c'est à dire lorsque les animaux réalisent le rappel de la 1<sup>ère</sup> discrimination), ni l'alcoolisation chronique (F<1.0 pour les 2 structures), ni le choc électrique (F<1.0 pour les 2 structures) ne modifient significativement l'expression de la protéine Fos. En revanche, en situation d'interférence proactive (c'est à dire lorsque les animaux réalisent le rappel de la 2<sup>ème</sup> discrimination), l'interaction Traitement x Condition est significative ( F(1,17) = 4.25 ; p = 0.05 pour le S et F(1,17) = 5.6 ; p = 0.03 pour les CML). Une analyse plus précise portant sur la situation d'interférence

proactive indique que le choc électrique tend à réduire le marquage chez les animaux « alcools » (  $F(1,6) = 1.7$  ;  $p = 0.25$  dans le S et  $F(1,6) = 2.6$  ;  $p = 0.15$  dans les CML) alors qu'il augmente le marquage chez les animaux témoins ( $F(1,11) = 3.3$  ;  $p = 0.09$  pour le S et  $F(1,11) = 5.4$  ;  $p = 0.04$  dans les CML).

#### 4. Effet du vieillissement sur l'expression de la protéine Fos

Nous avons comparé l'intensité du marquage chez les animaux jeunes de l'expérience décrite dans le chapitre IV et chez les animaux témoins des souris alcools (animaux âgés) de cette expérience.

Nous avons ainsi observé une réduction significative de l'intensité du marquage chez les animaux âgés par rapport aux animaux jeunes dans les structures suivantes : Noyau basolatéral de l'amygdale ( $p < 0.0001$ ) ; CA1 ventral ( $p < 0.05$ ) ; Gyrus denté dorsal et ventral ( $p < 0.01$ ) ; Cortex rhinal ( $p < 0.001$ ) ; Subiculum ( $p < 0.01$ ) ; Cortex préfrontal ( $p < 0.01$ ) ; Thalamus antérieur médian ( $p < 0.05$ ) ; Thalamus médiodorsal ( $p < 0.001$ ) ; Corps mamillaires latéraux ( $p < 0.0001$ ) et médians ( $p < 0.05$ ). En fait, nous observons une réduction significative du marquage pratiquement dans toutes les structures que nous avons étudiées exceptés le Noyau central de l'amygdale et le Noyau paraventriculaire de l'hypothalamus. Cet affaïssement généralisé de l'expression de la protéine Fos dans le cerveau âgé semble appuyer l'hypothèse classique selon laquelle une perte de la plasticité cérébrale (notamment dans l'hippocampe et le cortex) accompagnant le vieillissement serait en cause dans le déclin cognitif lié à l'âge (Foster , 1999) et notamment dans la perte de flexibilité cognitive. Toutefois, ces résultats sont à prendre avec précaution et ne seront discutés que brièvement dans la mesure où certains travaux récents démontrent que l'induction de gènes précoces comme *c-fos* n'est pas altérée au cours du vieillissement ; en revanche, la cinétique d'activation de Fos est plus lente chez

des animaux âgés par rapport aux animaux jeunes (Wagner et al, 2000). En d'autres termes, la réduction massive de l'intensité du marquage que nous observons ici ne serait peut être plus significative si nous avions prélevé les cerveaux 3 heures après la fin de l'épreuve comportementale au lieu de 1h30. Le caractère généralisé et non spécifique de l'affaîssement observé semble plaider en faveur de cette possibilité. Une étude de la cinétique d'activation de Fos dans notre protocole est donc nécessaire avant de conclure sur les effets du vieillissement.

### III DISCUSSION

Nous venons de préciser que le vieillissement s'accompagne d'une réduction de l'expression de la protéine Fos relativement généralisée. Cette réduction n'est pas forcément le signe d'un affaiblissement quantitatif mais pourrait refléter une cinétique d'activation plus lente chez les animaux âgés que chez les animaux jeunes. Quoi qu'il en soit, nous n'observons pas de différence de marquage entre les animaux âgés et alcoolisés dans la majorité des structures que nous avons étudiées, ce qui suggère que dans ces structures, l'alcoolisation chronique ne modifie pas (ne compense pas ou n'accroît pas) l'écart d'activité Fos des animaux âgés par rapport aux jeunes. Cependant, pour quatre structures particulières, il semble que l'alcoolisation chronique modifie le profil d'activation de la protéine par rapport aux animaux âgés. Ainsi, dans le CA1 ventral de l'hippocampe et dans le thalamus médiodorsal, l'alcoolisation chronique s'oppose à la réduction observée chez les animaux âgés, et s'accompagne d'une augmentation significative de l'expression de Fos alors qu'au contraire, dans le thalamus antérieur médian et dans le noyau paraventriculaire de l'hypothalamus, l'alcoolisation chronique s'accompagne d'une réduction de l'expression de la protéine Fos.



L'augmentation du marquage dans le CA1 ventral de l'hippocampe observée chez les animaux alcoolisés pourrait être mis en relation avec les données comportementales suggérant que chez ces derniers, contrairement aux animaux âgés, la capacité à prendre en compte les éléments contextuels est préservée. En effet, de nombreuses études montrent que l'hippocampe et notamment l'hippocampe ventral est impliqué dans le traitement des informations contextuelles (Richmond et al, 1999 ; Zhang et al, 2001, Bast et al, 2001).

Le thalamus médiodorsal est impliqué dans les processus mnésiques et intervient notamment dans des épreuves en labyrinthe radial évaluant la mémorisation de la position sérielle des bras visités (Stokes et Best, 1988, 1990). Il est également impliqué dans la détection de la récence et forme un circuit fonctionnel avec le cortex rhinal (Aggleton, 1999). Le thalamus médiodorsal entretient également des relations anatomiques étroites et réciproques avec le cortex préfrontal (Ray et Price, 1992) qui est impliqué dans l'organisation temporelle des événements (Butters, 1971 ; Fuster, 1980 ; Kolb, 1990). Certains auteurs définissent même le cortex préfrontal comme étant la cible de la majorité des neurones en provenance de thalamus médiodorsal (Divac et al, 1993). Les projections du thalamus médiodorsal sur le cortex préfrontal sont essentiellement glutamatergiques (Groenewegen et al, 1990 ; Pirot et al, 1994 ; Kuroda et al, 1996) et le « dialogue » entre ces deux structures est essentiel à la réalisation d'une épreuve d'alternance spatiale différée (Romanides et al, 1999). Comme nous l'avons montré précédemment dans notre épreuve, les animaux âgés sont incapables de sérier les événements. Cette perturbation pourrait être en partie liée à l'interruption du "dialogue" entre le thalamus médiodorsal et le cortex préfrontal. En revanche, les animaux alcoolisés conservent, au moins partiellement (sans le choc), la capacité à restituer les événements en fonction de l'ordre sériel dans lequel ils ont été présentés. Le

thalamus médiodorsal est plus activé chez les animaux alcoolisés que chez les témoins âgés ce qui pourrait expliquer le trouble moins important de l'organisation temporelle des informations. Cependant, l'activation du thalamus médiodorsal ne se répercute pas sur l'activité du cortex préfrontal, (qui n'est pas différente chez les animaux alcoolisés ou âgés), ce qui pourrait expliquer que les souris alcoolisées, bien que moins perturbées que leur témoins, ne sont tout de même pas capables d'utiliser les informations temporelles de façon aussi « cohérente » que les souris jeunes. Les données immunohistochimiques concernant le thalamus médiodorsal, recueillies chez l'animal alcoolisé sont, en apparence, contradictoires avec les études stipulant que la consommation chronique d'alcool induit des pertes cellulaires dans cette structure (Victor et al, 1989). Si c'est effectivement le cas, l'atteinte de ce noyau ne se traduit pas dans nos conditions par une réduction de l'activation de la protéine Fos. De plus, l'étude de l'activité métabolique cérébrale à l'échelon régional par la méthode du 2-DG réalisée au laboratoire (Bontempi et al, 1996) montre une réduction du métabolisme dans le thalamus médiodorsal après 18 mois d'alcoolisation chronique mais non après 12 mois. Or les animaux alcoolisés de nos expériences ont été soumis à la procédure d'alcoolisation chronique pendant une durée inférieure à 18 mois (12 à 14 mois). Ces données confirment une étude anatomique quantitative réalisée par Lescaudron et al (1984) qui montre que dans nos conditions expérimentales, le thalamus médiodorsal présente une perte cellulaire extrêmement modérée (-10%) par rapport aux témoins.

En revanche, l'alcoolisation chronique induit une réduction du marquage dans le thalamus antérieur médian et on ne peut pas exclure que cette baisse d'activité puisse être le résultat d'une atteinte de ce noyau (Aggleton, 1993 ; Halliday, 1994 ; Lescaudron et al, 1984 ; Bontempi et al, 1996). Selon le modèle d'interaction entre lobe temporal et diencéphale proposé par Aggleton, l'atteinte

sélective du noyau thalamique antérieur comme la lésion sélective du fornix ou des corps mamillaires suffit à produire une amnésie. Contrairement à cette prédiction, nos résultats indiquent que la baisse d'activité Fos du noyau antérieur médian ne s'accompagne pas d'une amnésie globale dans notre épreuve. Il est vrai cependant qu'il s'agit seulement ici d'une baisse d'activité et non d'une disparition totale de la structure. Cette baisse pourrait également résulter d'une réduction des afférences en provenance des corps mamillaires, fortement touchés par notre protocole d'alcoolisation chronique.

L'alcoolisation chronique induit également une réduction du marquage dans le noyau paraventriculaire de l'hypothalamus (PVN), ce qui semble suggérer que le fonctionnement de l'axe corticotrope est altéré chez les animaux alcoolisés. Ce résultat est en accord avec certaines études montrant qu'effectivement, la consommation chronique d'éthanol provoque des perturbations de ce système neuroendocrinien chez l'homme (Vescovi et al, 1997) et chez le rongeur (Ogilvie et al, 1998). Cependant, malgré la réduction significative du marquage dans le PVN, il est important de noter que cette structure demeure sensible au choc électrique chez les animaux alcoolisés qui répond de la même façon que chez les témoins âgés ou chez les jeunes (pour une discussion détaillée sur le PVN, Cf. discussion du chapitre IV).

Parmi les structures que nous avons étudiées, les activités du subiculum et des corps mamillaires latéraux varient selon un même profil, en fonction de la discrimination (1 ou 2) et en fonction du choc. De plus, ces deux structures sont sensibles à l'alcoolisation chronique. Sur le plan anatomique, la majorité des afférences des corps mamillaires médians et latéraux proviennent de la région hippocampique et plus particulièrement du complexe subiculaire (Allen et Hopkins, 1989 ; Swanson et Cowan, 1975). Les noyaux latéraux projettent en

retour sur le thalamus antérieur (Shibata, 1992) qui lui-même projette sur le subiculum (Shibata, 1993). Ces relations anatomiques étroites entre corps mamillaires latéraux et subiculum, peuvent rendre compte du profil d'activation identique pour ces deux régions cérébrales. Par ailleurs, le fonctionnement de ce circuit semble être perturbé par l'alcoolisation chronique. Cette observation corrobore les résultats obtenus au laboratoire par Bontempi et al (1996), montrant que les noyaux latéraux des corps mamillaires sont plus précocement vulnérables aux effets de l'alcoolisation chronique que les autres noyaux mamillaires. En étudiant l'activité métabolique cérébrale à l'échelon régional par la méthode du 2-DG, ces auteurs mettent en évidence une réduction d'activité dans les corps mamillaires latéraux à partir de 12 mois d'alcoolisation chronique alors qu'il faut attendre 18 mois pour observer une réduction significative dans les autres noyaux de la région mamillaire. Sur le plan fonctionnel, le lien de l'hippocampe avec les corps mamillaires et le thalamus antérieur serait critique pour la mémoire épisodique (Gaffan, 1992 ; Aggleton, 1999). La perturbation de cette boucle, induite par l'alcoolisation chronique, pourrait expliquer l'incapacité des animaux alcoolisés à mettre en relation les informations contextuelles avec les informations d'ordre sériel dans l'épreuve de DSCS en situation de stress. Par ailleurs, le dysfonctionnement de cette voie hippocampo-mamillo-thalamique, riche en récepteurs GABA/BDZ, pourrait refléter une perturbation de la transmission Gabaergique qui pourrait expliquer l'absence d'inhibition au plan comportemental (Cf. discussion sur les effets comportementaux de l'alcoolisation chronique).

# Chapitre VII

DISCUSSION GENERALE

## I. SYNTHÈSE ET DISCUSSIONS

L'objectif général de notre travail était de caractériser les effets du stress sur les processus de restitution mnésique chez la souris normale ou alcoolisée. L'approche devait être intégrée et permettre d'accéder à des paramètres comportementaux, physiologiques et neurobiologiques.

Dans un premier temps, nous avons élaboré et développé une épreuve originale (Discriminations Spatiales Contextuelles Sérielles, DSCS), permettant d'objectiver, au niveau comportemental, l'interaction entre stress et restitution mnésique chez l'animal normal. L'épreuve de DSCS est basée sur la recherche d'un agent renforçant alimentaire et se déroule dans une boîte à quatre trous. L'animal réalise l'apprentissage de deux discriminations spatiales successives, chacune d'elle se déroulant dans un contexte spécifique (plancher blanc et rugueux ou plancher noir et lisse). Après un délai de rétention variable (5 minutes ou 24 heures), l'animal effectue l'essai de rétention qui peut être précédé ou non d'un stress (application de chocs électriques aux pattes, se déroulant dans un pièce totalement différente de celle où a lieu la tâche mnésique). Lors de l'essai de rétention, l'animal est soumis à l'une ou l'autre des deux discriminations acquises, aucun trou ne contient d'agent renforçant alimentaire. Nous mesurons alors l'exploration relative des différents trous. Les données recueillies chez l'animal normal indiquent que cette épreuve présente un certain nombre de caractéristiques (sensibilité au délai de rétention, sensibilité à la charge d'informations, sensibilité à l'interférence, restitution en fonction de l'ordre sériel, dépendance au contexte...) qui font d'elle un test pertinent pour l'étude des processus mnésiques. Par ailleurs, nous avons montré que le stress, appliqué juste avant l'essai de rétention et pourvu d'un effet anxiogène dans le labyrinthe en croix surélevé, peut moduler le rappel du souvenir dans l'épreuve

de DSCS, indépendamment des phases acquisition et de la consolidation. L'effet modulateur du stress sur la restitution est « contexte-dépendant » puisqu'il n'est plus observé dans la procédure « sans variation contextuelle » entre les deux discriminations. Finalement, nos données semblent indiquer que les animaux normaux réalisent l'apprentissage des localisations spatiales en relation avec leurs attributs contextuels et temporels. Ainsi, les différents attributs de l'information s'influencent mutuellement lors de la restitution et le stress module le « poids » relatif des éléments contextuels ou temporels dans la réalisation de la tâche (pour une discussion plus détaillée, Cf. Chapitre IV)

Parallèlement à l'approche comportementale, nous avons entrepris une étude endocrinienne par dosage de la corticostérone plasmatique ainsi qu'une étude d'imagerie cérébrale, par marquage immunohistochimique de la protéine Fos, toujours chez l'animal normal. Ces deux études avaient pour objectifs d'une part, de caractériser la réponse hormonale induite par le stress, et d'autre part, d'identifier certaines des structures cérébrales impliquées dans la résolution de la tâche mnésique et modulées par le stress.

L'étude endocrinienne montre que le stress induit une forte activation de l'axe corticotrope, aboutissant à une libération massive de glucocorticoïdes dans la circulation générale. D'un point de vue cinétique, cette activation hormonale est concomitante des effets comportementaux du stress sur la restitution mnésique, suggérant que la réponse endocrinienne, et plus précisément la corticostérone, pourrait être responsable des effets comportementaux observés. L'étude d'imagerie cérébrale indique que l'épreuve de DSCS recrute des structures (Région hippocampique, Cortex rhinal, Cortex préfrontal, Thalamus médiodorsal, Corps mamillaires) connues pour leur implication dans la fonction mnésique. Le stress module l'activité de structures comme le Thalamus médiodorsal,

l'Amygdale et le Noyau paraventriculaire de l'hypothalamus, trois régions cérébrales classiquement impliquées dans les processus émotionnels (pour une discussion plus détaillée, Cf. Chapitre IV).

A l'issue de cette première série d'expériences, nous avons formulé l'hypothèse selon laquelle l'activation de l'axe corticotrope, et plus particulièrement l'augmentation de la concentration de corticostérone plasmatique chez les animaux stressés, serait en partie responsable des effets comportementaux observés (c'est à dire une perturbation de la restitution de la première information accompagnée d'une amélioration de la restitution de la seconde information). Les effets du stress sur les processus de restitution mnésique peuvent en effet s'exercer par l'intermédiaire d'une modulation des mécanismes centraux par les glucocorticoïdes circulants. Afin d'éprouver cette hypothèse, nous avons inhibé la réponse hormonale induite par le stress par administration de metyrapone, molécule inhibant spécifiquement la synthèse de corticostérone. Nous avons ainsi mis en évidence une implication des glucocorticoïdes dans la modulation des processus de restitution par le stress, indépendamment de l'acquisition et la consolidation. Cette modulation concerne plus particulièrement la restitution de la seconde information mais n'affecte pas ou peu la restitution de la première information. Les effets des glucocorticoïdes sont rapides et s'exerceraient plutôt par le biais de récepteurs membranaires induisant une réponse rapide, que par l'intermédiaire de récepteurs nucléaires induisant une réponse génomique beaucoup plus lente. Les effets des glucocorticoïdes sur la restitution sont complexes puisqu'ils produisent des effets opposés (amélioration ou perturbation) et de nature psychologique différente (modulation des réponses fausses ou interférentes) selon le type d'information et le type de stress. Ces données suggèrent que les glucocorticoïdes ne sont certainement pas les seules molécules en cause et que le



stress affecte la restitution selon des processus très complexes dont les glucocorticoïdes ne sont qu'un maillon. L'étude pharmacologique portant sur les effets comportementaux de l'administration d'agents pharmacologiques tels que la  $\beta$ CCM, agoniste inverse des récepteurs GABA/BDZ, ou la physostigmine, antiestérasique, montre que les transmissions gabaergiques et cholinergiques interviennent également dans la modulation des processus de restitution. A l'inverse des glucocorticoïdes, les systèmes gabaergiques et cholinergiques semblent être plus particulièrement impliqués dans la modulation de la restitution de la première information mais n'affectent pas ou peu la restitution de la seconde information. Cette modulation s'exerce par le biais de modifications du taux de réponses interférentes (pour une discussion plus détaillée, Cf. Chapitre V).

Les données précédentes, obtenues chez l'animal normal, fournissent un ensemble de résultats comportementaux, endocriniens, neurobiologiques et pharmacologiques intégrés et cohérents avec nos connaissances actuelles sur le stress et ses interactions avec la mémoire, portant essentiellement sur l'interaction avec les processus d'acquisition, de stockage et de consolidation des informations. La plupart des auteurs admettent aujourd'hui le rôle essentiel joué par les émotions dans toutes les activités mnésiques (Cf. Damasio, 1995). C'est en fonction des motivations, des humeurs, des peurs que sont choisies les informations pertinentes à mémoriser à plus ou moins long terme. Mais, comme le montre notre étude, le rôle de l'état émotionnel dans la restitution des souvenirs est également primordial. A l'issue de ces travaux, nous disposons donc d'un modèle valide permettant d'étudier l'effet du stress spécifiquement sur la phase de restitution.

Chez l'homme, de nombreux auteurs (Ellis, 1990 ; Oscar-Berman 1992) ont

étudié la contribution des désordres émotionnels et motivationnels aux déficits cognitifs, chez des patients atteints du syndrome de Korsakoff. L'hypothèse sous-jacente de ces travaux est que les facteurs émotionnels et motivationnels jouent un rôle clef dans la cognition. Si les systèmes émotionnels et motivationnels sont perturbés, des conséquences néfastes apparaîtront probablement sur le fonctionnement cognitif et notamment la mémoire. En effet, les patients Korsakoff sont souvent perçus comme maussades, apathiques, ils présentent en outre des modifications de l'humeur et des troubles d'affectivité. On remarque par exemple, que les événements pourvus normalement d'une signification émotionnelle forte n'induisent pas de réponse émotionnelle chez les patients Korsakoff. De telles perturbations émotionnelles influencent fortement les performances cognitives de l'individu. De la même façon, les études réalisées au laboratoire, montrent que la consommation chronique d'alcool induit chez la souris un déficit sélectif de la restitution mnésique (Béracochéa, 1995) parallèlement à une réduction de la réactivité émotionnelle de peur. Ce trouble de l'évocation est supprimé par l'administration d'agents pharmacologiques à potentiel anxiogène (Krazem et al, 1995 ; Borde et al, 1996). Inversement, l'administration d'un agent à potentiel anxiolytique (le diazépam) chez l'animal normal, induit une amnésie de restitution, comparable à celle observée chez les souris alcoolisées (Borde et al, 2000, 2001). Pour la plupart, ces résultats ont été obtenus dans une épreuve de mémoire (alternance spontanée) ne faisant pas appel à un agent renforçant (appétitif ou aversif). Une interprétation de ces données est que le déficit mnésique des animaux alcoolisés serait consécutif aux troubles émotionnels, puisqu'en restaurant pharmacologiquement une réactivité émotionnelle normale, on restaure également des performances mnésiques normales. L'épreuve de DCSC est particulièrement pertinente pour éprouver cette hypothèse puisqu'elle permet d'étudier l'effet d'un stress pourvu d'un

effet anxiogène sur la restitution. Dans cette épreuve, la modification du niveau émotionnel n'est pas induite par voie pharmacologique, comme dans les études citées précédemment, mais elle est totalement physiologique et non invasive.

Les animaux alcoolisés ainsi que leurs témoins du même âge (animaux âgés) ont donc été soumis à l'épreuve de DSCS selon le protocole décrit précédemment. Nous avons ainsi montré que les animaux âgés et alcoolisés présentent des déficits mnésiques par rapport aux jeunes et que ces perturbations sont différentes pour les deux groupes d'animaux. En effet, nos résultats montrent que les animaux âgés présentent un déficit d'acquisition et/ou de traitement et/ou de restitution des éléments contextuels puisque l'effet « contexte-dépendant » du stress, observé chez les animaux jeunes, n'existe plus. L'absence d'effet du stress chez les animaux âgés pourrait également être le signe d'un dysfonctionnement de l'axe corticotrope surajouté aux déficits mnésiques. Les animaux alcoolisés, en revanche, ne présentent pas le même déficit et répondent aux attributs contextuels de façon comparable, voire accrue, par rapport aux animaux jeunes. Il semble donc que l'alcoolisation chronique préserve de l'effet délétère du vieillissement concernant le traitement de l'information contextuelle. Cependant, bien qu'ils réalisent l'apprentissage des éléments contextuels, les animaux alcoolisés ne semblent pas capables d'indexer les informations relatives au contexte aux informations relative à l'ordre sériel comme le font les animaux jeunes. Ils présentent une « perturbation » mnésique par rapport aux jeunes, se manifestant par une absence d'interférence rétroactive (l'information récente, facilitée par la variation contextuelle, n'influence pas l'information plus ancienne). Les animaux alcoolisés répondent alors en se basant uniquement sur les éléments contextuels propres à chacune des deux discriminations. Pour ce groupe d'animaux, les informations d'ordre sériel ne sont pas mises en relation avec les attributs spatiaux et contextuels

des informations, et il n'existe pas d'influences mutuelles. Les animaux âgés, quant à eux ne se réfèrent ni aux informations contextuelles, ni aux informations d'ordre sériel et utilisent uniquement les informations spatiales c'est à dire les éléments stables et invariants de l'expérience (pour une discussion plus détaillée, Cf. Chapitre VI).

L'étude d'imagerie cérébrale par l'analyse de l'expression de la protéine Fos révèle que les animaux âgés présentent un affaissement généralisé de l'activation cérébrale qui peut être attribué soit à un ralentissement de la cinétique d'activation soit à une baisse quantitative d'activation. Ces données semblent appuyer l'hypothèse classique selon laquelle le vieillissement s'accompagne d'une perte de la plasticité cérébrale (notamment dans l'hippocampe et le cortex) qui serait en cause dans le déclin cognitif et la perte de flexibilité cognitive (Foster, 1999). La méthode d'analyse de l'expression de la protéine Fos ne permet pas d'identifier précisément un ou des réseaux spécifiquement affectés au cours du vieillissement et met plutôt en évidence une altération globale. L'alcoolisation chronique épargne l'activité de certaines structures comme l'hippocampe ou le thalamus médiodorsal par rapport aux animaux âgés. La préservation de l'activation de ces structures pourrait expliquer la moindre gravité du déficit mnésique des animaux alcoolisés par rapport aux animaux âgés. En outre, les animaux alcoolisés présentent un dysfonctionnement de la voie hippocampo-thalamo-mamillaire (hippocampe - thalamus antérieur - corps mamillaires) qui pourrait être responsable, sur le plan comportemental, de leur incapacité à relier les informations contextuelles aux informations d'ordre sériel (pour une discussion plus détaillée, Cf. Chapitre VI).

Enfin, les données comportementales et neurobiologiques concernant les trois groupes expérimentaux (jeunes, alcoolisés, âgés) sont résumées dans la

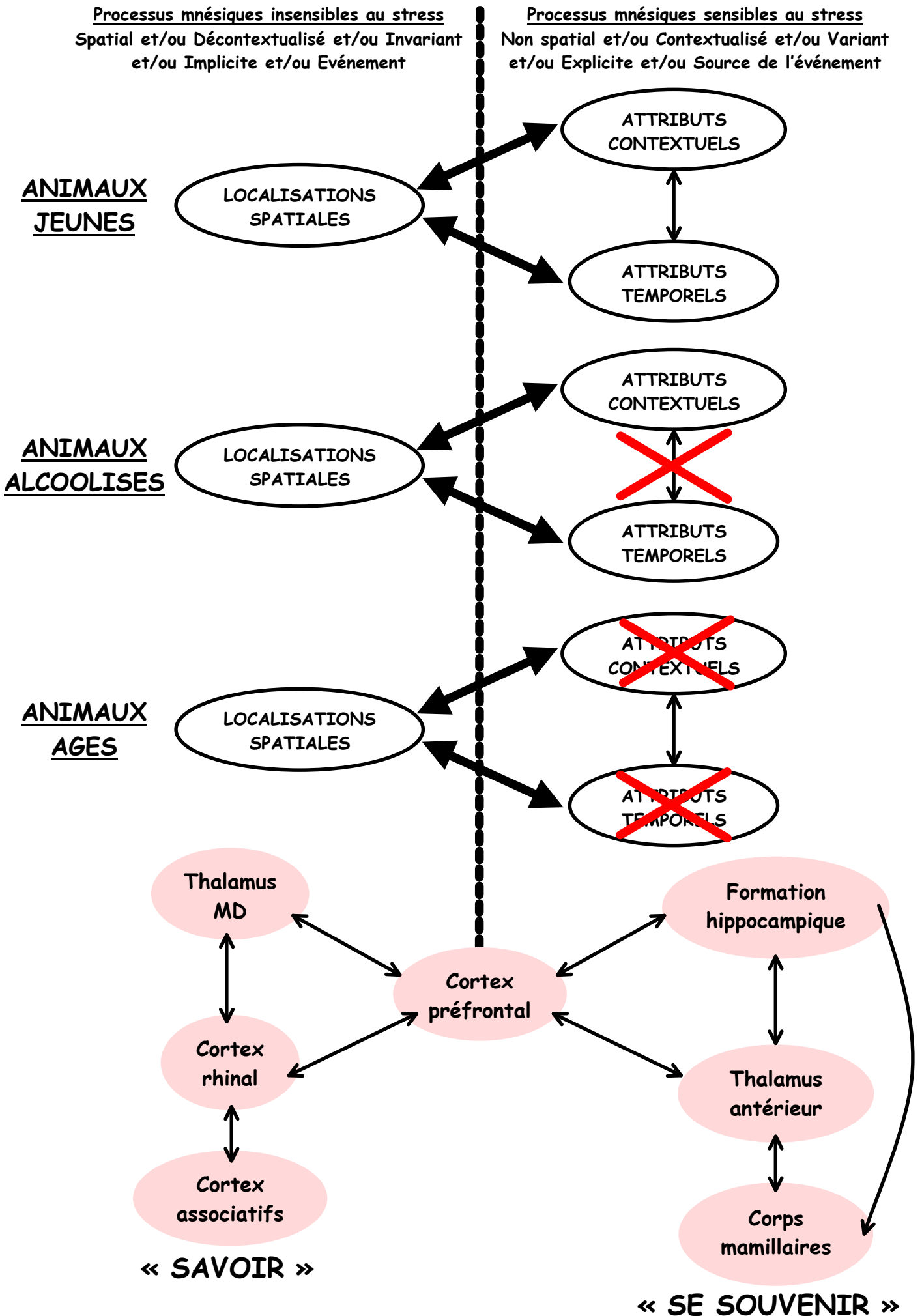


Schéma anatomique d'après Aggleton (1999)

figure ci-contre et pourraient s'inscrire dans le modèle théorique proposé par Aggleton (1999). Cet auteur suggère que la reconnaissance (« recognition ») n'est pas un processus unique mais implique au moins deux processus distincts. Le premier de ces processus permettrait la reconnaissance d'une information selon un jugement de familiarité ou de récence. Dans ce cas de figure, le sujet aurait « le sentiment de savoir » qu'il a déjà été confronté à cette information, sans pour autant se souvenir des détails associés à l'information (« **SAVOIR** »). Le second processus de reconnaissance est considéré comme plus élaboré puisqu'il impliquerait le souvenir (« recollective remembering ») de l'expérience dans laquelle l'information se place et suppose donc que l'information soit restituée avec les attributs contextuels généraux qui lui sont associés (« **SE SOUVENIR** »). « **SAVOIR** » est considéré comme un processus automatique alors que « **SE SOUVENIR** » serait un processus actif, requérant un certain effort cognitif (« effortfull »). Selon l'auteur, le circuit neurobiologique constitué de l'hippocampe, du thalamus antérieur et des corps mamillaires (**système bitemporal**) sous tendrait le processus « **SE SOUVENIR** » (dans l'hippocampe, l'auteur inclut le subiculum et le cortex entorhinal) et le circuit constitué par le cortex rhinal et le thalamus médiodorsal (**système diencéphalique**) serait le support neurobiologique du processus « **SAVOIR** » (le cortex rhinal comprend les cortex périrhinal et entorhinal) (Cf. schéma anatomique ci-contre). Le cortex entorhinal est donc un composant commun aux deux systèmes (il appartient au cortex rhinal et à la formation hippocampique). Le cortex préfrontal interagirait avec ces deux systèmes à différents niveaux et permettrait notamment d'engager la stratégie la plus adaptée pour une restitution efficace. Ainsi, les systèmes bitemporal et diencéphalique ne seraient pas dissociés comme c'est le cas traditionnellement (distinction entre amnésie bitemporale et amnésie diencéphalique) mais seraient en étroite

interaction, permettant à une information d'être intégralement restituée avec l'ensemble de ses attributs contextuels et temporels.

Concernant l'ensemble de nos travaux, certains points supplémentaires peuvent susciter une discussion. Le premier de ces points est l'apparent « effet protecteur » de l'alcoolisation chronique qui s'opposent aux effets délétères mnésiques et neurobiologiques associés au vieillissement. Nous n'avons pas d'explication à ce jour, mais il est clair que nos résultats sont en contradiction avec la théorie selon laquelle l'alcool induirait un vieillissement prématuré (« The premature aging hypothesis ») (Ryan et Butter, 1980 ; Parsons et al, 1987). Cette théorie suggère que l'alcoolisme accélère le vieillissement lorsqu'il débute précocement (chez les adolescents ou les jeunes adultes) ou plus tardivement (vers la cinquantaine), quand les manifestations normalement liées à l'âge ont commencé à apparaître. Certains travaux récents (Ruitenberg et al, 2002) ainsi qu'une étude actuellement en cours au laboratoire, suggèrent que la consommation d'alcool (faible ou modérée) pourrait diminuer les déficits cognitifs liés au vieillissement (Krazem et al, non publié). Le second point de notre travail suscitant une discussion, concerne les animaux âgés et le traitement des informations contextuelles. Nous montrons, dans le chapitre III (REC), que les animaux âgés ne présentent aucun déficit de la REC contextuelle, qui a même tendance à être accrue par rapport aux animaux jeunes. Or, dans le chapitre VI (DSCS), nous montrons que les animaux âgés présentent un déficit de traitement des informations contextuelles. Comment expliquer cette contradiction ? D'abord, il faut bien prendre en considération que le terme « contexte » n'a pas la même signification pour les deux épreuves. Dans l'épreuve de REC, le contexte désigne l'environnement global dans lequel est placé l'animal (la boîte de conditionnement, la grille délivrant le choc, l'espace perçu par l'animal autour de la boîte). Dans l'épreuve de DSCS, le contexte désigne la

couleur et la texture du plancher, constituant davantage « un indice » qu'un contexte au sens strict du terme. De plus, dans l'épreuve de REC, le contexte est associé (même si c'est une association secondaire) à une expérience aversive marquante. D'un point de vue adaptatif, la prise en compte des éléments contextuels dans cette expérience aversive est vitale. Dans l'épreuve de DSCS, le contexte n'est associé à aucun événement aversif, et son importance quant à la survie de l'animal est moindre.

## **II. PERSPECTIVES**

L'ensemble de ce travail nous a permis d'aboutir à un modèle comportemental qui semble être pertinent pour étudier les interactions entre stress et mémoire. En outre, les données neurobiologiques, endocriniennes et pharmacologiques, associées à l'étude comportementale, nous ouvrent un certain nombre de pistes pour poursuivre ce travail.

Il nous paraît pertinent, dans un premier temps, de prolonger l'étude comportementale chez l'animal normal, afin de préciser les bases psychologiques de l'effet du stress sur la restitution. Nous allons, tout d'abord, éprouver l'hypothèse selon laquelle le stress réactiverait les éléments contextuels les plus récents. Dans cette optique, nous soumettrons les animaux à la même procédure d'acquisition, mais sans renforcement alimentaire, c'est à dire en situation d'exploration spontanée de la boîte à 4 trous. Si l'hypothèse que nous avons formulée est vraie, alors l'application du stress avant l'essai de rétention devrait provoquer, lors du test, une modification de l'activité exploratoire (augmentation ou réduction) chez les animaux interrogés sur la seconde information. Nous pourrions par la suite, faire varier les différents délais de l'épreuve (délai de rétention, délai entre les deux acquisitions, délai entre le stress et la restitution) afin de mieux cerner les caractéristiques temporelles de l'évolution



des souvenirs et de leur modulation par le stress. Nous envisageons également de manipuler les attributs contextuels de l'épreuve (par exemple, changement de pièce d'une acquisition à l'autre) afin de mieux comprendre la dépendance de l'effet du stress vis à vis du contexte. Enfin, nous pourrions étendre l'étude de l'effet du stress sur la mémoire aux phases d'acquisition et de consolidation.

Sur le plan neurobiologique, nous avons précisé dans ce travail, que l'effet des glucocorticoïdes semble s'exercer par l'intermédiaire de récepteurs membranaires centraux. Il nous paraît maintenant pertinent de déterminer le ou les récepteurs membranaires concernés (récepteur glutamatergique NMDA, récepteur  $\sigma_1$ ...). Leur caractérisation pourra par exemple être effectuée par l'utilisation d'antagonistes spécifiques des récepteurs candidats (MK 801, NE-100, BD 1047...), chez des animaux stressés réalisant la restitution de l'épreuve de DSCS.

Concernant les animaux alcoolisés et âgés, nous allons compléter l'étude actuelle en réalisant la même étude endocrinienne que chez les animaux normaux (dosage de la corticostérone plasmatique et inhibition de la synthèse de glucocorticoïdes), afin d'évaluer l'état d'activation de l'axe corticotrope et la contribution de celui-ci dans la médiation des effets du stress sur la restitution, chez ces deux populations expérimentales.

Les approches globales pharmacologiques et immunohistochimiques nous ont permis de recueillir un certain nombre de données concernant les structures cérébrales et les neurotransmetteurs potentiellement impliqués dans l'épreuve de DSCS. Nous allons maintenant pouvoir envisager des approches plus ciblées, d'inactivation, de lésion ou d'injections pharmacologiques intra-cérébrales afin de démontrer plus directement leur implication.

# **BIBLIOGRAPHIE**

- Aggleton J. P. and Brown M. W. (1999) Episodic memory, amnesia, and the hippocampal-anterior thalamic axis. *Behav Brain Sci* **22**, 425-444; discussion 444-489.
- Aggleton J. P. and Mishkin M. (1983) Memory impairments following restricted medial thalamic lesions in monkeys. *Exp Brain Res* **52**, 199-209.
- Aggleton J. P. and Mishkin M. (1984) Projections of the amygdala to the thalamus in the cynomolgus monkey. *J Comp Neurol* **222**, 56-68.
- Aggleton J. P. and Sahgal A. (1993) The contribution of the anterior thalamic nuclei to anterograde amnesia. *Neuropsychologia* **31**, 1001-1019.
- Allen G. V. and Hopkins D. A. (1989) Mamillary body in the rat: topography and synaptology of projections from the subicular complex, prefrontal cortex, and midbrain tegmentum. *J Comp Neurol* **286**, 311-336.
- Anagnostaras S. G., Gale G. D. and Fanselow M. S. (2001) Hippocampus and contextual fear conditioning : recent controversies and advances. *Hippocampus* **11**, 1, 8-17.
- Armanini M. P., Hutchins C., Stein B. A. and Sapolsky R. M. (1990) Glucocorticoid endangerment of hippocampal neurons is NMDA-receptor dependent. *Brain Res* **532**, 7-12.
- Arnold F. J., De Lucas Bueno M., Shiers H., Hancock D. C., Evan G. I. and Herbert J. (1992) Expression of c-fos in regions of the basal limbic forebrain following intracerebroventricular corticotropin-releasing factor in unstressed or stressed male rats. *Neuroscience* **51**, 377-390.
- Arnsten A. F. and Goldman-Rakic P. S. (1998) Noise stress impairs prefrontal cortical cognitive function in monkeys: evidence for a hyperdopaminergic mechanism. *Arch Gen Psychiatry* **55**, 362-368.
- Baddeley A. (1996) The fractionation of working memory. *Proc Natl Acad Sci U S A* **93**, 13468-13472.
- Barnes C. A. (1987) Neurological and behavioral investigations of memory failure in aging animals. *Int J Neurol* **21-22**, 130-136.
- Bartus R. T., Dean R. L., 3rd, Beer B. and Lippa A. S. (1982) The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction. *Science* **217**, 408-414.
- Bast T., Zhang W. N. and Feldon J. (2001) The ventral hippocampus and fear conditioning in rats. Different anterograde amnesias of fear after tetrodotoxin inactivation and infusion of the GABA(A) agonist muscimol. *Exp Brain Res* **139**, 39-52.
- Beatty W. W. and Butters N. (1986) Further analysis of encoding in patients with Huntington's disease. *Brain Cogn* **5**, 387-398.
- Beatty W. W., Bierley R. A. and Boyd J. G. (1985) Preservation of accurate spatial memory in aged rats. *Neurobiol Aging* **6**, 219-225.
- Belzung C., Misslin R., Vogel E., Dodd R. H. and Chapouthier G. (1987) Anxiogenic effects of methyl-beta-carboline-3-carboxylate in a light/dark choice situation. *Pharmacol Biochem Behav*

28, 29-33.

Beracochea D. and Jaffard R. (1985) Memory deficits subsequent to chronic consumption of alcohol in mice: an analysis based on spontaneous alternation behavior. *Behav Brain Res* **15**, 15-25.

Beracochea D. J. and Jaffard R. (1987) Impairment of spontaneous alternation behavior in sequential test procedures following mammillary body lesions in mice: evidence for time-dependent interference-related memory deficits. *Behav Neurosci* **101**, 187-197.

Beracochea D. J. and Krazem A. (1991) Effects of mammillary body and mediodorsal thalamic lesions on elevated plus maze exploration. *Neuroreport* **2**, 793-796.

Beracochea D. J., Alaoui-Bouarraqui F. and Jaffard R. (1989) Impairment of memory in a delayed non-matching to place task following mamillary body lesions in mice. *Behav Brain Res* **34**, 147-154.

Beracochea D., Durkin T. P. and Jaffard R. (1986) On the involvement of the central cholinergic system in memory deficits induced by long term ethanol consumption in mice. *Pharmacol Biochem Behav* **24**, 519-524.

Beracochea D., Lescaudron L., Tako A., Verna A. and Jaffard R. (1987) Build-up and release from proactive interference during chronic ethanol consumption in mice: a behavioral and neuroanatomical study. *Behav Brain Res* **25**, 63-74.

Beracochea D., Micheau J. and Jaffard R. (1992) Memory deficits following chronic alcohol consumption in mice: relationships with hippocampal and cortical cholinergic activities. *Pharmacol Biochem Behav* **42**, 749-753.

Bergson H. (1896) *Matière et mémoire*, Presses Universitaires de France, 4<sup>ème</sup> édition « Quadrige » (1993).

Biggio G., Concas A., Mele S. and Corda M. G. (1987) Changes in GABAergic transmission induced by stress, anxiogenic and anxiolytic beta-carbolines. *Brain Res Bull* **19**, 301-308.

Blanchard R. J. and Blanchard D. C. (1969) Passive and active reactions to fear-eliciting stimuli. *J Comp Physiol Psychol* **68**, 129-135.

Bontempi B., Beracochea D., Jaffard R. and Destrade C. (1996) Reduction of regional brain glucose metabolism following different durations of chronic ethanol consumption in mice: a selective effect on diencephalic structures. *Neuroscience* **72**, 1141-1153.

Borde N. and Beracochea D. J. (1999) Effects of diazepam or chronic alcohol treatment on spatial reversal learning in mice. *Pharmacol Biochem Behav* **62**, 719-725.

Borde N., Jaffard R. and Beracochea D. (1998) Effects of chronic alcohol consumption or Diazepam administration on item recognition and temporal ordering in a spatial working memory task in mice. *Eur J Neurosci* **10**, 2380-2387.

Borde N., Jaffard R. and Beracochea D. J. (1996) Effects of methyl beta-carboline-3-carboxylate on memory impairments induced by chronic alcohol consumption in mice. *Prog*

*Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* **20**, 1377-1387.

Borski R. J., Helms L. M., Richman N. H., 3rd and Grau E. G. (1991) Cortisol rapidly reduces prolactin release and cAMP and  $^{45}\text{Ca}^{2+}$  accumulation in the cichlid fish pituitary in vitro. *Proc Natl Acad Sci U S A* **88**, 2758-2762.

Bradbury M. J., Cascio C. S., Scribner K. A. and Dallman M. F. (1991) Stress-induced adrenocorticotropin secretion: diurnal responses and decreases during stress in the evening are not dependent on corticosterone. *Endocrinology* **128**, 680-688.

Braestrup C., Nielsen M., Nielsen E. B. and Lyon M. (1979) Benzodiazepine receptors in the brain as affected by different experimental stresses: the changes are small and not unidirectional. *Psychopharmacology (Berl)* **65**, 273-277.

Breuner C. W., Greenberg A. L. and Wingfield J. C. (1998) Noninvasive corticosterone treatment rapidly increases activity in Gambel's white-crowned sparrows (*Zonotrichia leucophrys gambelii*). *Gen Comp Endocrinol* **111**, 386-394.

Brion S. and Mikol J. (1978) [Lesion of the lateral dorsal thalamic nucleus and alcoholic Korsakoff syndrome]. *J Neurol Sci* **38**, 249-261.

Brion S., Mikol J. and Plas J. (1985) [Neuropathology of amnesic syndromes in man]. *Rev Neurol (Paris)* **141**, 627-643.

Brown J., Lewis V., Brown M., Horn G. and Bowes J. B. (1982) A comparison between transient amnesias induced by two drugs (diazepam or lorazepam) and amnesia of organic origin. *Neuropsychologia* **20**, 55-70.

Brown M. R. and Gray T. S. (1988) Peptide injections into the amygdala of conscious rats: effects on blood pressure, heart rate and plasma catecholamines. *Regul Pept* **21**, 95-106.

Brown M. W., Wilson F. A. and Riches I. P. (1987) Neuronal evidence that inferomedial temporal cortex is more important than hippocampus in certain processes underlying recognition memory. *Brain Res* **409**, 158-162.

Buckley M. J. and Gaffan D. (1997) Impairment of visual object-discrimination learning after perirhinal cortex ablation. *Behav Neurosci* **111**, 467-475.

Buresova O., Bolhuis J. J. and Bures J. (1986) Differential effects of cholinergic blockade on performance of rats in the water tank navigation task and in a radial water maze. *Behav Neurosci* **100**, 476-482.

Butter C. M. and Snyder D. R. (1972) Alterations in aversive and aggressive behaviors following orbital frontal lesions in rhesus monkeys. *Acta Neurobiol Exp (Warsz)* **32**, 525-565.

Butters N. (1984) The clinical aspects of memory disorders: contributions from experimental studies of amnesia and dementia. *J Clin Neuropsychol* **6**, 17-36.

Butters N. and Cermak L. S. (1980) Alcoholic Korsakoff's syndrome. An information-processing approach to amnesia. Academic Press, New York.

- Butters N., Pandya D., Sanders K. and Dye P. (1971) Behavioral deficits in monkeys after selective lesions within the middle third of sulcus principalis. *J Comp Physiol Psychol* **76**, 8-14.
- Cahill L., Prins B., Weber M. and McGaugh J. L. (1994) Beta-adrenergic activation and memory for emotional events. *Nature* **371**, 702-704.
- Cannon W. B. (1929) *Bodily changes in pain, hunger, fear and rage*. Appleton, New York.
- Celerier A., Ognard R., Decorte L. and Beracochea D. (2000) Deficits of spatial and non-spatial memory and of auditory fear conditioning following anterior thalamic lesions in mice: comparison with chronic alcohol consumption. *Eur J Neurosci* **12**, 2575-2584.
- Cohen N. J. and Squire L. R. (1980) Preserved learning and retention of pattern-analyzing skill in amnesia: dissociation of knowing how and knowing that. *Science* **210**, 207-210.
- Coutureau E., Galani R., Gosselin O., Majchrzak M. and Di Scala G. (1999) Entorhinal but not hippocampal or subicular lesions disrupt latent inhibition in rats. *Neurobiol Learn Mem* **72**, 143-157.
- Covenas R., de Leon M., Cintra A., Bjelke B., Gustafsson J. A. and Fuxe K. (1993) Coexistence of c-Fos and glucocorticoid receptor immunoreactivities in the CRF immunoreactive neurons of the paraventricular hypothalamic nucleus of the rat after acute immobilization stress. *Neurosci Lett* **149**, 149-152.
- Cozzolino R., Guaraldi D., Giuliani A., Ghirardi O., Ramacci M. T. and Angelucci L. (1994) Effects of concomitant nicotinic and muscarinic blockade on spatial memory disturbance in rats are purely additive: evidence from the Morris water task. *Physiol Behav* **56**, 111-114.
- Craik F. I., Morris L. W., Morris R. G. and Loewen E. R. (1990) Relations between source amnesia and frontal lobe functioning in older adults. *Psychol Aging* **5**, 148-151.
- Creel D. (1979) Luminance-onset, pattern-onset and pattern-reversal evoked potentials in human albinos demonstrating visual system anomalies. *J Biomed Eng* **1**, 100-104.
- Cruz A. P., Frei F. and Graeff F. G. (1994) Ethopharmacological analysis of rat behavior on the elevated plus-maze. *Pharmacol Biochem Behav* **49**, 171-176.
- Curran H. V. (1986) Tranquillising memories: a review of the effects of benzodiazepines on human memory. *Biol Psychol* **23**, 179-213.
- Curran H. V. (1991) Benzodiazepines, memory and mood: a review. *Psychopharmacology (Berl)* **105**, 1-8.
- Curran T. and Franza B. R., Jr. (1988) Fos and Jun: the AP-1 connection. *Cell* **55**, 395-397.
- D'Amato M. R. (1973) Delayed matching and short-term memory in monkeys. In G. H. Bower (Ed.) *The psychology of learning and motivation: Advances in research and theory*, Academic Press, New York, **7**, 227-269.
- Da Cunha C., Wolfman C., Huang C. H., Walz R., Koya R., Bianchin M., Medina J. H. and Izquierdo I. (1991) Effect of post-training injections of flumazenil into the amygdala, hippocampus and

septum on retention of habituation and of inhibitory avoidance in rats. *Braz J Med Biol Res* **24**, 301-306.

Damasio A. R. (1995) L'erreur de Descartes, Odile Jacob.

Davidson T. L., McKernan M. G. and Jarrard L. E. (1993) Hippocampal lesions do not impair negative patterning: a challenge to configural association theory. *Behav Neurosci* **107**, 227-234.

Davies P. (1985) A critical review of the role of the cholinergic system in human memory and cognition. *Ann N Y Acad Sci* **444**, 212-217.

de Quervain D. J., Roozendaal B. and McGaugh J. L. (1998) Stress and glucocorticoids impair retrieval of long-term spatial memory. *Nature* **394**, 787-790.

de Quervain D. J., Roozendaal B., Nitsch R. M., McGaugh J. L. and Hock C. (2000) Acute cortisone administration impairs retrieval of long-term declarative memory in humans. *Nat Neurosci* **3**, 313-314.

DeBold J. F. and Frye C. A. (1994) Genomic and non-genomic actions of progesterone in the control of female hamster sexual behavior. *Horm Behav* **28**, 445-453.

Delatour B. and Gisquet-Verrier P. (2000) Functional role of rat prelimbic-infralimbic cortices in spatial memory: evidence for their involvement in attention and behavioural flexibility. *Behav Brain Res* **109**, 113-128.

Desmedt A. (2000) Analyse fonctionnelle des relations entre le système septo-hippocampique et le complexe amygdalien dans deux types de conditionnement classique aversif chez la souris. Thèse de doctorat de l'Université de Bordeaux I.

Deutsch J. A. (1971) The cholinergic synapse and the site of memory. *Science*, **174**, 788-794.

Deutsch J. A. and Leibowitz S. F. (1966) Amnesia or reversal of forgetting by anticholinesterase depending simply on time injection. *Sciences*, **153**, 1017-1018.

Diamond I. and Gordon A. S. (1997) Cellular and molecular neuroscience of alcoholism. *Physiol. Rev.*, **77**, 1-20.

Divac I., Mogensen J., Petrovic-Minic B., Zilles K. and Regidor J. (1993) Cortical projections of the thalamic mediodorsal nucleus in the rat. Definition of the prefrontal cortex. *Acta Neurobiol Exp (Warsz)* **53**, 425-429.

Doyere V., Gisquet-Verrier P., de Marsanich B. and Ammassari-Teule M. (2000) Age-related modifications of contextual information processing in rats: role of emotional reactivity, arousal and testing procedure. *Behav Brain Res* **114**, 153-165.

Drachman D. A. and Leavitt J. (1974) Human memory and the cholinergic system. A relationship to aging? *Arch Neurol* **30**, 113-121.

Dragunow M. and Faull R. (1989) The use of c-fos as a metabolic marker in neuronal pathway tracing. *J Neurosci Methods* **29**, 261-265.

Dunn J. D. and Whitener J. (1986) Plasma corticosterone responses to electrical stimulation of

- the amygdaloid complex: cytoarchitectural specificity. *Neuroendocrinology* **42**, 211-217.
- Eichenbaum H., Otto T. and Cohen N. J. (1992) The hippocampus--what does it do? *Behav Neural Biol* **57**, 2-36.
- Eichenbaum H., Schoenbaum G., Young B. and Bunsey M. (1996) Functional organization of the hippocampal memory system. *Proc Natl Acad Sci U S A* **93**, 13500-13507.
- Ellis R. J. (1990) Dichotic asymmetries in aging and alcoholic subjects. *Alcoholism : Clin and Exp Research* **14**, 863-871.
- Ennaceur A., Neave N. and Aggleton J. P. (1996) Neurotoxic lesions of the perirhinal cortex do not mimic the behavioural effects of fornix transection in the rat. *Behav Brain Res* **80**, 9-25.
- Espejo E. F. (1997) Effects of weekly or daily exposure to the elevated plus-maze in male mice. *Behav Brain Res* **87**, 233-238.
- Eustache F. (1996) Contribution de l'étude de la pathologie humaine aux théories structurales de la mémoire. Dans « *La mémoire, neuropsychologie clinique et modèles cognitifs* », DeBoeck Université, Bruxelles.
- Eustache F., Rioux P., Desgranges B., Marchal G., Petit-Taboue M. C., Dary M., Lechevalier B. and Baron J. C. (1995) Healthy aging, memory subsystems and regional cerebral oxygen consumption. *Neuropsychologia* **33**, 867-887.
- Eymin C., Kopp N., Laurent B., Martin D., Simon, L. and Miachon S. (1992) Central benzodiazepine-binding sites in human cerebral structures associated with memory processes. *Dementia*, **3**, 232-238.
- Fabiani M. and Friedman D. (1997) Dissociations between memory for temporal order and recognition memory in aging. *Neuropsychologia* **35**, 129-141.
- Fahy F. L., Riches I. P. and Brown M. W. (1993) Neuronal activity related to visual recognition memory: long-term memory and the encoding of recency and familiarity information in the primate anterior and medial inferior temporal and rhinal cortex. *Exp Brain Res* **96**, 457-472.
- Fanselow M. S. (1980) Conditioned and unconditional components of post-shock freezing. *Pavlov J Biol Sci* **15**, 177-182.
- Fanselow M. S. (1990) Factors governing one-trial contextual conditioning. *Animal Learn and Behavior* **18**, 264-270.
- File S. E. and Baldwin H. A. (1987) Effects of beta-carbolines in animal models of anxiety. *Brain Res Bull* **19**, 293-299.
- File S. E. and Pellow S. (1988) Low and high doses of benzodiazepine receptor inverse agonists respectively improve and impair performance in passive avoidance but do not affect habituation. *Behav Brain Res* **30**, 31-36.
- Flexner L. B., Flexner J. B. and Church A. C. (1991) Long-term suppression in mice of the development of complementary memory storage sites: effect of a muscarinic antagonist. *Pharmacol Biochem Behav* **39**, 689-694.



- Flood J. F. and Cherkin A. (1986) Scopolamine effects on memory retention in mice: a model of dementia? *Behav Neural Biol* **45**, 169-184.
- Flood J. F., Landry D. W. and Jarvik M. E. (1981) Cholinergic receptor interactions and their effects on long-term memory processing. *Brain Res* **215**, 177-185.
- Foster T. C. (1999) Involvement of hippocampal synaptic plasticity in age-related memory decline. *Brain Res Brain Res Rev* **30**, 236-249.
- Freund G. and ballinger W. E. (1988) Decrease in benzodiazepine receptors in the frontal cortex of alcoholics. *Alcohol*, **5**, 275-282.
- Frick K. M., Baxter M. G., Markowska A. L., Olton D. S. and Price D. L. (1995) Age-related spatial reference and working memory deficits assessed in the water maze. *Neurobiol Aging* **16**, 149-160.
- Fuster J. M. (1980) *The prefrontal cortex*. New York, Raven Press.
- Fuster J. M. (1995) Memory in the cortex of the primate. *Biol Res* **28**, 59-72.
- Fuster J. M. (1997) Network memory. *Trends Neurosci* **20**, 451-459.
- Gaffan D. (1994) Dissociated effects of perirhinal cortex ablation, fornix transection and amygdectomy: evidence for multiple memory systems in the primate temporal lobe. *Exp Brain Res* **99**, 411-422.
- Gaffan, 1992, The role of hippocampus-fornix-mammillary system in episodic memory. In L. R. Squire and N. Butters (eds) *Neuropsychology of memory*, 2<sup>de</sup> edition, The Guilford Press, 130-146.
- Gage F. H., Dunnett S. B. and Bjorklund A. (1984a) Spatial learning and motor deficits in aged rats. *Neurobiol Aging* **5**, 43-48.
- Gage F. H., Kelly P. A. and Bjorklund A. (1984b) Regional changes in brain glucose metabolism reflect cognitive impairments in aged rats. *J Neurosci* **4**, 2856-2865.
- Gallagher M. and Pellemounter M. A. (1988a) Spatial learning deficits in old rats: a model for memory decline in the aged. *Neurobiol Aging* **9**, 549-556.
- Gallagher M. and Pellemounter M. A. (1988b) An age-related spatial learning deficit: choline uptake distinguishes "impaired" and "unimpaired" rats. *Neurobiol Aging* **9**, 363-369.
- Gallagher M., Burwell R. and Burchinal M. (1993) Severity of spatial learning impairment in aging: development of a learning index for performance in the Morris water maze. *Behav Neurosci* **107**, 618-626.
- Gilad G. M. (1987) The stress-induced response of the septo-hippocampal cholinergic system. A vectorial outcome of psychoneuroendocrinological interactions. *Psychoneuroendocrinology* **12**, 167-184.
- Gilad G. M., Mahon B. D., Finkelstein Y., Koffler B. and Gilad V. H. (1985) Stress-induced activation of the hippocampal cholinergic system and the pituitary-adrenocortical axis. *Brain Res*

347, 404-408.

Gilad G. M., Rabey J. M. and Gilad V. H. (1987) Presynaptic effects of glucocorticoids on dopaminergic and cholinergic synaptosomes. Implications for rapid endocrine-neural interactions in stress. *Life Sci* **40**, 2401-2408.

Goldman-Rakic P. S. and Porrino L. J. (1985) The primate mediodorsal (MD) nucleus and its projection to the frontal lobe. *J Comp Neurol* **242**, 535-560.

Golomb J., Kluger A., de Leon M. J., Ferris S. H., Mittelman M., Cohen J. and George A. E. (1996) Hippocampal formation size predicts declining memory performance in normal aging. *Neurology* **47**, 810-813.

Groenewegen H. J. (1988) Organization of the afferent connections of the mediodorsal thalamic nucleus in the rat, related to the mediodorsal-prefrontal topography. *Neuroscience* **24**, 379-431.

Groenewegen H. J., Berendse H. W., Wolters J. G. and Lohman A. H. (1990) The anatomical relationship of the prefrontal cortex with the striatopallidal system, the thalamus and the amygdala: evidence for a parallel organization. *Prog Brain Res* **85**, 95-116; discussion 116-118.

Gruen R. J., Wenberg K., Elahi R. and Friedhoff A. J. (1995) Alterations in GABAA receptor binding in the prefrontal cortex following exposure to chronic stress. *Brain Research* **684**, 112-114.

Gu Q. and Moss R. L. (1998) Novel mechanism for non-genomic action of 17 beta-oestradiol on kainate-induced currents in isolated rat CA1 hippocampal neurones. *J Physiol* **506 ( Pt 3)**, 745-754.

Guldin W. O. and Markowitsch H. J. (1982) Epidural kainate, but not ibotenate, produces lesions in local and distant regions of the brain. A comparison of the intracerebral actions of kainic acid and ibotenic acid. *J Neurosci Methods* **5**, 83-93.

Haas C. A., Frotscher M. and Deller T. (1999) Differential induction of c-Fos, c-Jun and Jun B in the rat central nervous system following unilateral entorhinal cortex lesion. *Neuroscience* **90**, 41-51.

Hagan J. J., Tweedie F. and Morris R. G. (1986) Lack of task specificity and absence of posttraining effects of atropine on learning. *Behav Neurosci* **100**, 483-493.

Halliday G., Cullen K. and Harding A. (1994) Neuropathological correlates of memory dysfunction in the Wernicke-Korsakoff syndrome. *Alcohol Alcohol Suppl* **2**, 245-251.

Hanner M., Moebius F. F., Flandorfer A., Knaus H. G., Striessnig J., Kempner E. and Glossmann H. (1996) Purification, molecular cloning, and expression of the mammalian sigma1-binding site. *Proc Natl Acad Sci U S A* **93**, 8072-8077.

Harbuz M. S., Chalmers J., De Souza L. and Lightman S. L. (1993) Stress-induced activation of CRF and c-fos mRNAs in the paraventricular nucleus are not affected by serotonin depletion. *Brain Res* **609**, 167-173.

- Havoundjian H., Paul S. M. and Skolnick P. (1986) Acute, stress-induced changes in the benzodiazepine/gamma-aminobutyric acid receptor complex are confined to the chloride ionophore. *J Pharmacol Exp Ther* **237**, 787-793.
- Hennessy M. J., Kirkby K. C. and Montgomery I. M. (1991) Comparison of the amnesic effects of midazolam and diazepam. *Psychopharmacology (Berl)* **103**, 545-550.
- Hitchcock J. M., Sananes C. B. and Davis M. (1989) Sensitization of the startle reflex by footshock: blockade by lesions of the central nucleus of the amygdala or its efferent pathway to the brainstem. *Behav Neurosci* **103**, 509-518.
- Hoffman G. E., Lee W. S., Smith M. S., Abbud R., Roberts M. M., Robinson A. G. and Verbalis J. G. (1993) c-Fos and Fos-related antigens as markers for neuronal activity: perspectives from neuroendocrine systems. *NIDA Res Monogr* **125**, 117-133.
- Holmes P. V. and Drugan R. C. (1991) Differential effects of anxiogenic central and peripheral benzodiazepine receptor ligands in tests of learning and memory. *Psychopharmacology (Berl)* **104**, 249-254.
- Holmes P. V. and Drugan R. C. (1991) Differential effects of anxiogenic central and peripheral benzodiazepine receptor ligands in tests of learning and memory. *Psychopharm* **104**, 249-254.
- Honig W. K. (1978) Study of the working memory in the pigeon. In S. H. Hulse, H. Fowler, et W. K. Honig (Eds) *Cognitive processes in animal behavior*. Hillsdale, 211-248.
- Hunt S. P., Pini A. and Evan G. (1987) Induction of c-fos-like protein in spinal cord neurons following sensory stimulation. *Nature* **328**, 632-634.
- Huppert F. A. and Piercy M. (1978a) The role of trace strength in recency and frequency judgements by amnesic and control subjects. *Q J Exp Psychol* **30**, 347-354.
- Huppert F. A. and Piercy M. (1978b) Dissociation between learning and remembering in organic amnesia. *Nature* **275**, 317-318.
- Imaki T., Shibasaki T., Hotta M. and Demura H. (1992) Early induction of c-fos precedes increased expression of corticotropin-releasing factor messenger ribonucleic acid in the paraventricular nucleus after immobilization stress. *Endocrinology* **131**, 240-246.
- Iwata J., Chida K. and LeDoux J. E. (1987) Cardiovascular responses elicited by stimulation of neurons in the central amygdaloid nucleus in awake but not anesthetized rats resemble conditioned emotional responses. *Brain Res* **418**, 183-188.
- Jacobson S., Butters N. and Tovsky N. J. (1978) Afferent and efferent subcortical projections of behaviorally defined sectors of prefrontal granular cortex. *Brain Res* **159**, 279-296.
- Jaffard R. and Meunier M. (1993) Role of the hippocampal formation in learning and memory. *Hippocampus* **3 Spec No**, 203-217.
- James W. (1890) Principles of psychology. *Holt*, New York.
- Jarrard L. E. (1993) On the role of the hippocampus in learning and memory in the rat. *Behav Neural Biol* **60**, 9-26.

- Jeansok J. K. and Yoon K. (1998) Stress : metaplastic effects in the hippocampus. *TINS*, **21**, 12, 505-509.
- Jennings J. M. and Jacoby L. L. (1993) Automatic versus intentional uses of memory: aging, attention, and control. *Psychol Aging* **8**, 283-293.
- Kausler D. H., Salthouse T. A. and Saults J. S. (1988) Temporal memory over the adult lifespan. *Am J Psychol* **101**, 207-215.
- Kavaliers M. and Ossenkopp K. P. (2001) Corticosterone rapidly reduces male odor preferences in female mice. *Neuroreport* **12**, 2999-3002.
- Klüver H. and Bucy P. C. (1938) An analysis of certain effects of bilateral temporal lobectomy in the rhesus monkey, with special reference to « psychic blindness ». *J of Psychology* **5**, 33-54.
- Kohler C. and Schwarcz R. (1983) Comparison of ibotenate and kainate neurotoxicity in rat brain: a histological study. *Neuroscience* **8**, 819-835.
- Kolb B. (1990) Animal models for human PFC-related disorders. *Prog Brain Res* **85**, 501-519.
- Kononen J., Honkaniemi J., Alho H., Koistinaho J., Iadarola M. and Pelto-Huikko M. (1992) Fos-like immunoreactivity in the rat hypothalamic-pituitary axis after immobilization stress. *Endocrinology* **130**, 3041-3047.
- Kopelman M. D. (1992) The « new » and the « old » : components of the anterograde and retrograde memory loss in Korsakoff and Alzheimer patients. In L. R. Squire and N. Butters (eds) *Neuropsychology of memory*, 2<sup>de</sup> edition, The Guilford Press, 130-146.
- Kovacs K. J. and Sawchenko P. E. (1996) Regulation of stress-induced transcriptional changes in the hypothalamic neurosecretory neurons. *J Mol Neurosci* **7**, 125-133.
- Krazem A., Borde N. and Beracochea D. (2001) Effects of diazepam and beta-CCM on working memory in mice: relationships with emotional reactivity. *Pharmacol Biochem Behav* **68**, 235-244.
- Kubo N., Koyama T., Kawasaki K., Tsuchida J., Sankai T., Terao K. and Yoshikawa Y. (2001) Behavioral compensations in a positional learning and memory task by aged monkeys. *Behav Processes* **56**, 15-22.
- Kumar K., Wu X. and Evans A. T. (1996) Expression of c-fos and fos-B proteins following transient forebrain ischemia: effect of hypothermia. *Brain Res Mol Brain Res* **42**, 337-343.
- Kuroda M., Murakami K., Igarashi H. and Okada A. (1996) The convergence of axon terminals from the mediodorsal thalamic nucleus and ventral tegmental area on pyramidal cells in layer V of the rat prelimbic cortex. *Eur J Neurosci* **8**, 1340-1349.
- Kushner M. G., Sher K. J., Wood M. D. and Wood P. K. (1994) Anxiety and drinking behavior : moderating effects of tension-reduction alcohol outcome expectancies. *Alcohol Clin Exp Res* **18**, 4, 852-860.
- Laurent-Demir C. (1997) Etude de l'amnésie rétrograde graduelle étendue à l'aide de méthodes invasives et non invasives chez la souris. Thèse de doctorat de l'Université de Bordeaux I.

- LeDoux J. E. (1993) Emotional memory systems in the brain. *Behav Brain Res* **58**, 69-79.
- Lescaudron L., Beracochea D., Verna A. and Jaffard R. (1984) Chronic ethanol consumption induces neuronal loss in mammillary bodies of the mouse: a quantitative analysis. *Neurosci Lett* **50**, 151-155.
- Lhermitte F. and Signoret J. L. (1972) [Neuropsychologic analysis and differentiation of amnesia syndromes]. *Rev Neurol (Paris)* **126**, 161-178.
- Lister R. G. (1985) The amnesic action of benzodiazepines in man. *Neurosci Biobehav Rev* **9**, 87-94.
- Lister R. G. (1987) The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. *Psychopharmacology (Berl)* **92**, 180-185.
- Livezey G. T., Balabkins N. and Vogel W. H. (1987) The effect of ethanol (alcohol) and stress on plasma catecholamine levels in individual female and male rats. *Neuropsychobiology* **17**, 193-198.
- Lupien S. J. and McEwen B. S. (1997) The acute effects of corticosteroids on cognition: integration of animal and human model studies. *Brain Res Brain Res Rev* **24**, 1-27.
- Mair W. G., Warrington E. K. and Weiskrantz L. (1979) Memory disorder in Korsakoff's psychosis: a neuropathological and neuropsychological investigation of two cases. *Brain* **102**, 749-783.
- Maitra R. and Reynolds J. N. (1999) Subunit dependent modulation of GABAA receptor function by neuroactive steroids. *Brain Res* **819**, 75-82.
- Marighetto A., Etchamendy N., Touzani K., Torrea C. C., Yee B. K., Rawlins J. N. and Jaffard R. (1999) Knowing which and knowing what: a potential mouse model for age-related human declarative memory decline. *Eur J Neurosci* **11**, 3312-3322.
- Markowitsch H. J., Kessler J. and Denzler P. (1986) Recognition memory and psychophysiological responses to stimuli with neutral or emotional content: a study of Korsakoff patients and recently detoxified and longterm abstinent alcoholics. *Int J Neurosci* **29**, 1-35.
- Markowitsch H. J., Kessler J., Bast-Kessler C. and Riess R. (1984) Different emotional tones significantly affect recognition performance in patients with Korsakoff psychosis. *Int J Neurosci* **25**, 145-159.
- Maurice T., Urani A., Phan V. L. and Romieu P. (2001) The interaction between neuroactive steroids and the sigma1 receptor function: behavioral consequences and therapeutic opportunities. *Brain Res Brain Res Rev* **37**, 116-132.
- McCreary D. R. and Savada S. W. (2000) Stress, alcohol use and alcohol-related problems : the influence of negative and positive affect in two cohorts of young adults. *J stud Alcohol* **61**, 3, 466-474.
- McEwen B. S. and Sapolsky R. M. (1995) Stress and cognitive function. *Curr Opin Neurobiol* **5**, 205-216.

- McEwen B. S., Weiss J. M. and Schwartz L. S. (1968) Selective retention of corticosterone by limbic structures in rat brain. *Nature* **220**, 911-912.
- McGeer P. L. (1984) The 12th J. A. F. Stevenson memorial lecture. Aging, Alzheimer's disease, and the cholinergic system. *Can J Physiol Pharmacol* **62**, 741-754.
- McIntyre J. S. and Craik F. I. (1987) Age differences in memory for item and source information. *Can J Psychol* **41**, 175-192.
- McNamara R. K. and Skelton R. W. (1991) Diazepam impairs acquisition but not performance in the Morris water maze. *Pharmacol Biochem Behav* **38**, 651-658.
- Medina J. H., Novas M. L., Wolfman C. N., Levi de Stein M. and De Robertis E. (1983) Benzodiazepine receptors in rat cerebral cortex and hippocampus undergo rapid and reversible changes after acute stress. *Neuroscience* **9**, 331-335.
- Mennini T., Gobbi M., Perin L. and Salmona M. (1988) Rapid internalization of benzodiazepine receptors in the rat cortex induced by handling. *Adv Biochem Psychopharmacol* **45**, 263-273.
- Merchenthaler I. (1984) Corticotropin releasing factor (CRF)-like immunoreactivity in the rat central nervous system. Extrahypothalamic distribution. *Peptides* **5 Suppl 1**, 53-69.
- Meunier M., Hadfield W., Bachevalier J. and Murray E. A. (1996) Effects of rhinal cortex lesions combined with hippocampectomy on visual recognition memory in rhesus monkeys. *J Neurophysiol* **75**, 1190-1205.
- Milner B., Squire L. R. and Kandel E. R. (1998) Cognitive neuroscience and the study of memory. *Neuron* **20**, 445-468.
- Moller C., Wiklund L., Sommer W., Thorsell A. and Heilig M. (1997) Decreased experimental anxiety and voluntary ethanol consumption in rats following central but not basolateral amygdala lesions. *Brain Res* **760**, 94-101.
- Mondadori C. and Weiskrantz L. (1993) NMDA receptor blockers facilitate and impair learning via different mechanisms. *Behav Neural Biol* **60**, 205-210.
- Morgan M. A., Romanski L. M. and LeDoux J. E. (1993) Extinction of emotional learning: contribution of medial prefrontal cortex. *Neurosci Lett* **163**, 109-113.
- Morris R. G., Garrud P., Rawlins J. N. and O'Keefe J. (1982) Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. *Nature* **297**, 681-683.
- Moscovitch M. and Winocur G. (1992) The neuropsychology of memory and aging. In F. I. M. Craik and T.A. Salthouse (Eds) *Handbook of aging and cognition*, Lawrence Erlbaum, Hillsdale, 315-372.
- Moscovitch M. and Winocur G. (1995) Frontal lobes, memory, and aging. *Ann N Y Acad Sci* **769**, 119-150.
- Nadel L. (1995) The role of the hippocampus in declarative memory: a comment on Zola-Morgan, Squire, and Ramus (1994). *Hippocampus* **5**, 232-239.

- Nash J. F., Jr. and Maickel R. P. (1988) The role of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis in post-stress induced ethanol consumption by rats. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* **12**, 653-671.
- Niles L. P., Smith L. J. and Tenn C. C. (1997) Modulation of c-fos expression in the rat striatum by diazepam. *Neurosci Lett* **236**, 5-8.
- O'Keefe J. and Nadel L. (1978) The hippocampus as a cognitive map. Oxford University Press, Oxford.
- O'Donnell V. M., Pitts W. M. and Fann W. E. (1986) Noradrenergic and cholinergic agents in Korsakoff's syndrome. *Clin Neuropharmacol* **9**, 65-70.
- Ogilvie K., Lee S., Weiss B. and Rivier C. (1998) Mechanisms mediating the influence of alcohol on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis responses to immune and nonimmune signals. *Alcohol Clin Exp Res* **22**, 2435-2475.
- Ohl F. and Fuchs E. (1999) Differential effects of chronic stress on memory processes in the tree shrew. *Brain Res Cogn Brain Res* **7**, 379-387.
- Okaichi H. and Jarrard L. E. (1982) Scopolamine impairs performance of a place and cue task in rats. *Behav Neural Biol* **35**, 319-325.
- Okaichi H., Oshima Y. and Jarrard L. E. (1989) Scopolamine impairs both working and reference memory in rats: a replication and extension. *Pharmacol Biochem Behav* **34**, 599-602.
- O'Keefe J. and Dostrovsky J. (1971) The hippocampus as a spatial map. Preliminary evidence from unit activity in the freely-moving rat. *Brain Res* **34**, 171-175.
- Oler J. A. and Markus E. J. (2000a) Age-related deficits in the ability to encode contextual change: a place cell analysis. *Hippocampus* **10**, 338-350.
- Oler J. A. and Markus E. J. (2000b) Age-related deficits in episodic memory may result from decreased responsiveness of hippocampal place cells to changes in context. *Ann N Y Acad Sci* **911**, 465-470.
- Olton D. S., Becker J. T., Handelmann G. E. (1979) Hippocampus, space and memory. *Behav Brain Sci* **2**, 313-365.
- Orchinik et al. (1994). In E. R. De Kloet, E. C. Azmitia et P. W. Landfield (Eds) *Brain corticosteroid receptors*, Annual New York Academic Sciences, 746, 101-114.
- O'Reilly R. C. and Rudy J. W. (2001) Conjunctive representations in learning and memory: principles of cortical and hippocampal function. *Psychol Rev* **108**, 311-345.
- Oscar-Berman M. (1980) Neuropsychological consequences of long-term chronic alcoholism. *Am Sci* **68**, 410-419.
- Oscar-Berman M. (1984) Comparative neuropsychology and alcoholic Korsakoff disease. In L. R. Squire & N. Butters (Eds) *Neuropsychology of Memory*, The Guilford Press, New-York, 194-202.
- Oscar-Berman M. (1992) The contributions of emotional and motivational abnormalities to

- cognitive deficits in alcoholism and aging. In L. R. Squire and N. Butters (eds) *Neuropsychology of memory*, 2<sup>de</sup> edition, The Guilford Press, 130-146.
- Oscar-Berman M. and Zola-Morgan S. M. (1980) Comparative neuropsychology and Korsakoff's syndrome. I.--Spatial and visual reversal learning. *Neuropsychologia* **18**, 499-512.
- Oscar-Berman M., Hancock M., Mildworf B., Hutner N. and Weber D. A. (1990) Emotional perception and memory in alcoholism and aging. *Alcohol Clin Exp Res* **14**, 383-393.
- Ostberg A. J., Raisman G., Field P. M., Iversen L. L. and Zigmond R. E. (1976) A quantitative comparison of the formation of synapses in the rat superior cervical sympathetic ganglion by its own and by foreign nerve fibres. *Brain Res* **107**, 445-470.
- Paller K. A. (1997) Consolidating dispersed neocortical memories: the missing link in amnesia. *Memory* **5**, 73-88.
- Parkin A. J. and Walter B. M. (1992) Recollective experience, normal aging, and frontal dysfunction. *Psychol Aging* **7**, 290-298.
- Parsons O. A., Butters N. M. and Nathan P. (1987) *Neuropsychology of alcoholism : Implication for diagnosis and treatment*. New York, Guilford Press.
- Pellow S., Chopin P., File S. E. and Briley M. (1985) Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *J Neurosci Methods* **14**, 149-167.
- Phillips R. G. and LeDoux J. E. (1992) Differential contribution of amygdala and hippocampus to cued and contextual fear conditioning. *Behav Neurosci* **106**, 274-285.
- Phillips R. G. and LeDoux J. E. (1994) Lesions of the dorsal hippocampal formation interfere with background but not foreground contextual fear conditioning. *Learn Mem* **1**, 34-44.
- Pirot S., Jay T. M., Glowinski J. and Thierry A. M. (1994) Anatomical and electrophysiological evidence for an excitatory amino acid pathway from the thalamic mediodorsal nucleus to the prefrontal cortex in the rat. *Eur J Neurosci* **6**, 1225-1234.
- Pitkanen A., Pikkarainen M., Nurminen N. and Ylinen A. (2000) Reciprocal connections between the amygdala and the hippocampal formation, perirhinal cortex, and postrhinal cortex in rat. A review. *Ann N Y Acad Sci* **911**, 369-391.
- Pitkanen A., Savander V. and LeDoux J. E. (1997) Organization of intra-amygdaloid circuitries in the rat: an emerging framework for understanding functions of the amygdala. *Trends Neurosci* **20**, 517-523.
- Porrino L. J., Crane A. M. and Goldman-Rakic P. S. (1981) Direct and indirect pathways from the amygdala to the frontal lobe in rhesus monkeys. *J Comp Neurol* **198**, 121-136.
- Preuss T. M. and Goldman-Rakic P. S. (1987) Crossed corticothalamic and thalamocortical connections of macaque prefrontal cortex. *J Comp Neurol* **257**, 269-281.
- Rabbitt P. M. and Rogers M. (1965) Age and choice between responses in a self-paced repetitive task. *Ergonomics* **8**, 435-444.



- Radulovic J., Kammermeier J. and Spiess J. (1998) Relationship between fos production and classical fear conditioning: effects of novelty, latent inhibition, and unconditioned stimulus preexposure. *J Neurosci* **18**, 7452-7461.
- Rapp P. R. and Amaral D. G. (1989) Evidence for task-dependent memory dysfunction in the aged monkey. *J Neurosci* **9**, 3568-3576.
- Ray J. P. and Price J. L. (1992) The organization of the thalamocortical connections of the mediodorsal thalamic nucleus in the rat, related to the ventral forebrain-prefrontal cortex topography. *J Comp Neurol* **323**, 167-197.
- Reisenzein R. (1983) The Schachter theory of emotion: two decades later. *Psychol Bull* **94**, 239-264.
- Richmond M. A., Yee B. K., Pouzet B., Veenman L., Rawlins J. N., Feldon J. and Bannerman D. M. (1999) Dissociating context and space within the hippocampus: effects of complete, dorsal, and ventral excitotoxic hippocampal lesions on conditioned freezing and spatial learning. *Behav Neurosci* **113**, 1189-1203.
- Riekkinen P., Jr., Sirvio J., Aaltonen M. and Riekkinen P. (1990) Effects of concurrent manipulations of nicotinic and muscarinic receptors on spatial and passive avoidance learning. *Pharmacol Biochem Behav* **37**, 405-410.
- Roberts W. A. and Grant D. S. (1974) Short-term memory in pigeon with presentation time precisely controlled. *Learnind and Motivation*, **5**, 393-408.
- Roberts W. A. and Grant D. S. (1976) Studies of short-term memory in the pigeon using the delayed matching to sample procedure. In D. L. Medin, W. A. Roberts et R. T. Davis (Eds) *Processes of animal memory*. Hillsale, New York.
- Rodgers R. J. and Johnson N. J. (1995) Factor analysis of spatiotemporal and ethological measures in the murine elevated plus-maze test of anxiety. *Pharmacol Biochem Behav* **52**, 297-303.
- Rogan M. T. and LeDoux J. E. (1996) Emotion: systems, cells, synaptic plasticity. *Cell* **85**, 469-475.
- Romanides A. J., Duffy P. and Kalivas P. W. (1999) Glutamatergic and dopaminergic afferents to the prefrontal cortex regulate spatial working memory in rats. *Neuroscience* **92**, 97-106.
- Roosendaal B. and McGaugh J. L. (1996) The memory-modulatory effects of glucocorticoids depend on an intact stria terminalis. *Brain Res* **709**, 243-250.
- Roosendaal B., Bohus B. and McGaugh J. L. (1996) Dose-dependent suppression of adrenocortical activity with metyrapone: effects on emotion and memory. *Psychoneuroendocrinology* **21**, 681-693.
- Roosendaal B., Koolhaas J. M. and Bohus B. (1991a) Central amygdala lesions affect behavioral and autonomic balance during stress in rats. *Physiol Behav* **50**, 777-781.
- Roosendaal B., Koolhaas J. M. and Bohus B. (1991b) Attenuated cardiovascular, neuroendocrine,

- and behavioral responses after a single footshock in central amygdaloid lesioned male rats. *Physiol Behav* **50**, 771-775.
- Rose J. D., Moore F. L. and Orchinik M. (1993) Rapid neurophysiological effects of corticosterone on medullary neurons: relationship to stress-induced suppression of courtship clasping in an amphibian. *Neuroendocrinology* **57**, 815-824.
- Rottemberg H. (1985) Alcohol modulation of the benzodiazepine receptors. *Alcohol*, **2**, 203-207.
- Rudy J. W. (1996) Postconditioning isolation disrupts contextual conditioning: an experimental analysis. *Behav Neurosci* **110**, 238-246.
- Ruitenbergh A., van Swieten J. C., Wittteman J. C. M., Mehta K. M., van Duijn C. M., Hofman A. et Breteler M. M. B. (2001) Alcohol consumption and risk of dementia : the Rotterdam study. *The Lancet*, **359**, 281-286.
- Ryan C. and Butters N. (1980) Learning and memory impairments in young and old alcoholics : evidence for the premature aging hypothesis. *Alcohol Clin Exp Res* **4**, 288-293.
- Safer D. J. and Allen R. P. (1971) The central effects of scopolamine in man. *Biol Psychiatry* **3**, 347-355.
- Sagar S. M., Sharp F. R. and Curran T. (1988) Expression of c-fos protein in brain: metabolic mapping at the cellular level. *Science* **240**, 1328-1331.
- Sakanaka M., Shibasaki T. and Lederis K. (1987) Corticotropin releasing factor-like immunoreactivity in the rat brain as revealed by a modified cobalt-glucose oxidase-diaminobenzidine method. *J Comp Neurol* **260**, 256-298.
- Sallaz M. and Jourdan F. (1993) C-fos expression and 2-deoxyglucose uptake in the olfactory bulb of odour-stimulated awake rats. *Neuroreport* **4**, 55-58.
- Sandi C., Loscertales M. and Guaza C. (1997) Experience-dependent facilitating effect of corticosterone on spatial memory formation in the water maze. *Eur J Neurosci* **9**, 637-642.
- Sandi C., Rose S. P., Mileusnic R. and Lancashire C. (1995) Corticosterone facilitates long-term memory formation via enhanced glycoprotein synthesis. *Neuroscience* **69**, 1087-1093.
- Sandi C., Venero C. and Guaza C. (1996a) Novelty-related rapid locomotor effects of corticosterone in rats. *Eur J Neurosci* **8**, 794-800.
- Sandi C., Venero C. and Guaza C. (1996b) Nitric oxide synthesis inhibitors prevent rapid behavioral effects of corticosterone in rats. *Neuroendocrinology* **63**, 446-453.
- Sapolsky R. M. (1985) Glucocorticoid toxicity in the hippocampus: temporal aspects of neuronal vulnerability. *Brain Res* **359**, 300-305.
- Sarter M., Bodewitz G. and Stephens D. N. (1988) Attenuation of scopolamine-induced impairment of spontaneous alteration behaviour by antagonist but not inverse agonist and agonist beta-carbolines. *Psychopharmacology (Berl)* **94**, 491-495.
- Sarter M., Bruno J. P. and Dudchenko P. (1990) Activating the damaged basal forebrain

- cholinergic system: tonic stimulation versus signal amplification. *Psychopharmacology (Berl)* **101**, 1-17.
- Savage L. M., Pitkin S. R. and Careri J. M. (1999) Memory enhancement in aged rats: the differential outcomes effect. *Dev Psychobiol* **35**, 318-327.
- Schachter S. (1975) Cognition and peripheralist-centralist controversies in motivation and emotion. In M.S. Gazzaniga and C. Blakemore (eds.), *Handbook of psychobiology*. Academic Press, New York.
- Schacter D. L. (1987) Implicit expressions of memory in organic amnesia: learning of new facts and associations. *Hum Neurobiol* **6**, 107-118.
- Schacter D. L., Kaszniak A. W., Kihlstrom J. F. and Valdiserri M. (1991) The relation between source memory and aging. *Psychol Aging* **6**, 559-568.
- Schoenfeld T. A. and Hamilton L. W. (1977) Secondary brain changes following lesions: a new paradigm for lesion experimentation. *Physiol Behav* **18**, 951-967.
- Scoville W. B. and Milner (1957) Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *J Neurol Neurosurg and Psychiat* **20**, 11-21.
- Selye H. (1956) *The stress of life*. McGraw-Hill, New York.
- Serra M., Pisu M. G., Littera M., Papi G., Sanna E., Tuveri F., Usala L., Purdy R. H. and Biggio G. (2000) Social isolation-induced decreases in both the abundance of neuroactive steroids and GABA(A) receptor function in rat brain. *J Neurochem* **75**, 732-740.
- Shapiro M. L. and Olton D. S. (1996) Fonctions hippocampiques et interférences. Dans D. S. Schacter et E. Tulving (Eds) *Systèmes de mémoire chez l'homme et chez l'animal*, Solal, Marseille.
- Sharp F. R., Sagar S. M., Hicks K., Lowenstein D. and Hisanaga K. (1991) c-fos mRNA, Fos, and Fos-related antigen induction by hypertonic saline and stress. *J Neurosci* **11**, 2321-2331.
- Shaw C. and Aggleton J. P. (1995) Evidence for the independence of recognition and recency memory in amnesic subjects. *Cortex* **31**, 57-71.
- Sherry D. F. and Schacter D. L. (1987) The evolution of multiple memory systems. *Psychol. Rev.* **94**, 439-454.
- Shi L. J., He H. Y., Liu L. A. and Wang C. A. (2001) Rapid nongenomic effect of corticosterone on neuronal nicotinic acetylcholine receptor in PC12 cells. *Arch Biochem Biophys* **394**, 145-150.
- Shibata H. (1992) Topographic organization of subcortical projections to the anterior thalamic nuclei in the rat. *J Comp Neurol* **323**, 117-127.
- Shibata H. (1993) Direct projections from the anterior thalamic nuclei to the retrohippocampal region in the rat. *J Comp Neurol* **337**, 431-445.
- Shimamura A. P., Janowsky J. S. and Squire L. R. (1990) Memory for the temporal order of events in patients with frontal lobe lesions and amnesic patients. *Neuropsychologia* **28**, 803-813.

- Shors T. J., Weiss C. and Thompson R. F. (1992) Stress-induced facilitation of classical conditioning. *Science* **257**, 537-539.
- Smith M. L., Leonard G., Crane J. and Milner B. (1995) The effects of frontal- or temporal-lobe lesions on susceptibility to interference in spatial memory. *Neuropsychologia*, **33**, 3, 275-285.
- Sonino N. (1982) Inhibition of adrenal biosynthesis by metyrapone. In M. K. Agarwal (ed.) *Hormone antagonists*, New York, de Gruyter, 419-429.
- Sotty F., Sandner G. and Gosselin O. (1996) Latent inhibition in conditioned emotional response: c-fos immunolabelling evidence for brain areas involved in the rat. *Brain Res* **737**, 243-254.
- Spangler E. L., Chachich M. E. and Ingram D. K. (1988) Scopolamine in rats impairs acquisition but not retention in a 14-unit T-maze. *Pharmacol Biochem Behav* **30**, 949-955.
- Spencer W. D. and Raz N. (1995) Differential effects of aging on memory for content and context: a meta-analysis. *Psychol Aging* **10**, 527-539.
- Squire L. R. (1982) Comparisons between forms of amnesia: some deficits are unique to Korsakoff's syndrome. *J Exp Psychol Learn Mem Cogn* **8**, 560-571.
- Squire L. R. (1987) The organization and neural substrates of human memory. *Int J Neurol* **21-22**, 218-222.
- Squire L. R. and McKee R. (1992) Influence of prior events on cognitive judgments in amnesia. *J Exp Psychol Learn Mem Cogn* **18**, 106-115.
- Squire L. R. and Moore R. Y. (1979) Dorsal thalamic lesion in a noted case of human memory dysfunction. *Ann Neurol* **6**, 503-506.
- Squire L. R. and Zola S. M. (1996) Structure and function of declarative and nondeclarative memory systems. *Proc Natl Acad Sci U S A* **93**, 13515-13522.
- Squire L. R. and Zola-Morgan S. (1988) Memory: brain systems and behavior. *Trends Neurosci* **11**, 170-175.
- Squire L. R. and Zola-Morgan S. (1991) The medial temporal lobe memory system. *Science* **253**, 1380-1386.
- Standford S. C. (1996) Stress: A major variable in the psychopharmacologic response. *Pharm Biochem and Behavior* **54**, 1, 211-217.
- Stephens D. N., Schneider H. H., Kehr W., Jensen L. H., Petersen E. and Honore T. (1987) Modulation of anxiety by beta-carbolines and other benzodiazepine receptor ligands: relationship of pharmacological to biochemical measures of efficacy. *Brain Res Bull* **19**, 309-318.
- Sternberg E. M., Glowa J. R., Smith M. A., Calogero A. E., Listwak S. J., Aksentijevich S., Chrousos G. P., Wilder R. L. and Gold P. W. (1992) Corticotropin releasing hormone related behavioral and neuroendocrine responses to stress in Lewis and Fischer rats. *Brain Res* **570**, 54-60.
- Stokes K. A. and Best P. J. (1988) Mediodorsal thalamic lesions impair radial maze performance

in the rat. *Behav Neurosci* **102**, 294-300.

Stokes K. A. and Best P. J. (1990) Mediodorsal thalamic lesions impair "reference" and "working" memory in rats. *Physiol Behav* **47**, 471-476.

Su T. P., Shukla K. and Gund T. (1990) Steroid binding at sigma receptors: CNS and immunological implications. *Ciba Found Symp* **153**, 107-113; discussion 113-106.

Swanson L. W. and Cowan W. M. (1975) Hippocampo-hypothalamic connections: origin in subicular cortex, not ammon's horn. *Science* **189**, 303-304.

Swanson L. W., Sawchenko P. E., Rivier J. and Vale W. W. (1983) Organization of ovine corticotropin-releasing factor immunoreactive cells and fibers in the rat brain: an immunohistochemical study. *Neuroendocrinology* **36**, 165-186.

Tako A., Beracochea D., Lescaudron L. and Jaffard R. (1991) Differential effects of chronic ethanol consumptions or thiamine deficiency on spatial working memory in Balb/c mice: a behavioral and neuroanatomical study. *Neurosci Lett* **123**, 37-40.

Talland G. A. (1965) *Deranged memory*. New York, Academic Press.

Teppema L. J., Veening J. G., Kranenburg A., Dahan A., Berkenbosch A. and Olievier C. (1997) Expression of c-fos in the rat brainstem after exposure to hypoxia and to normoxic and hyperoxic hypercapnia. *J Comp Neurol* **388**, 169-190.

Thiebot M. H. (1985) Some evidence for amnesic-like effects of benzodiazepines in animals. *Neurosci Biobehav Rev* **9**, 95-100.

Thiebot M. H. (1989) Les modèles animaux de l'anxiété. *Psychologie Médicale*, **21**, A, 97-108.

Tolman E. C. (1948) Cognitive maps in rats and men. *Psychological rev* **55**, 189-208.

Tulving E. (1995) Organization of memory : Quo vadis ? In M. S. Gazzaniga (ed.) *The cognitive neurosciences*. Cambridge, MA : MIT Press, 839-847.

Venault P., Chapouthier G., de Carvalho L. P., Simiand J., Morre M., Dodd R. H. and Rossier J. (1986) Benzodiazepine impairs and beta-carboline enhances performance in learning and memory tasks. *Nature* **321**, 864-866.

Venault P., Chapouthier G., Simiand J., Dodd R. H. and Rossier J. (1987) Enhancement of performance by methyl beta-carboline-3-carboxylate, in learning and memory tasks. *Brain Res Bull* **19**, 365-370.

Venero C. and Sandi C. (1997) Effects of NMDA and AMPA receptor antagonists on corticosterone facilitation of long-term memory in the chick. *Eur J Neurosci* **9**, 1923-1928.

Vescovi P. P., DiGennaro C. and Coiro V. (1997) Hormonal (ACTH, cortisol, beta-endorphin, and met-enkephalin) and cardiovascular responses to hyperthermic stress in chronic alcoholics. *Alcohol Clin Exp Res* **21**, 1195-1198.

Victor M., Adams R. D. and Collins G. H. (1989) The Wernicke-Korsakoff syndrome and related neurologic disorders due to alcoholism and malnutrition. F. A . Davies. Philadelphia.

von Cramon D. Y., Hebel N. and Schuri U. (1985) A contribution to the anatomical basis of thalamic amnesia. *Brain* **108** (Pt 4), 993-1008.

Wagner A. P., Schmoll H., Badan I., Platt D. and Kessler C. (2000) Brain plasticity: to what extent do aged animals retain the capacity to coordinate gene activity in response to acute challenges. *Exp Gerontol* **35**, 1211-1227.

Wan H., Aggleton J. P. and Brown M. W. (1999) Different contributions of the hippocampus and perirhinal cortex to recognition memory. *J Neurosci* **19**, 1142-1148.

Wan W., Janz L., Vriend C. Y., Sorensen C. M., Greenberg A. H. and Nance D. M. (1993) Differential induction of c-Fos immunoreactivity in hypothalamus and brain stem nuclei following central and peripheral administration of endotoxin. *Brain Res Bull* **32**, 581-587.

Waring A. E. and Means L. W. (1976) The effect of medial thalamic lesions on emotionality, activity, and discrimination learning in the rat. *Physiol Behav* **17**, 181-186.

Warrington E. K. and Scoville H. M. (1969) The selective impairment of auditory verbal short-term memory. *Brain* **92**, 885-896.

Weingartner H., Grafman J., Boutelle W., Kaye W. and Martin P. R. (1983) Forms of memory failure. *Science* **221**, 380-382.

Winocur G. (1988) Long-term memory loss in senescent rats: neuropsychological analysis of interference and context effects. *Psychol Aging* **3**, 273-279.

Winocur G., Kinsbourne M. and Moscovitch M. (1981) The effect of cuing on release from proactive interference in korsakoff amnesic patients. *J Exp Psychol [Hum Learn]* **7**, 56-65.

Wolkowitz O. M., Reus V. I., Weingartner H., Thompson K., Breier A., Doran A., Rubinow D. and Pickar D. (1990) Cognitive effects of corticosteroids. *Am J Psychiatry* **147**, 1297-1303.

Yau J. L., Olsson T., Morris R. G., Meaney M. J. and Seckl J. R. (1995) Glucocorticoids, hippocampal corticosteroid receptor gene expression and antidepressant treatment: relationship with spatial learning in young and aged rats. *Neuroscience* **66**, 571-581.

Zhang W. N., Bast T. and Feldon J. (2001) The ventral hippocampus and fear conditioning in rats: different anterograde amnesias of fear after infusion of N-methyl-D-aspartate or its noncompetitive antagonist MK-801 into the ventral hippocampus. *Behav Brain Res* **126**, 159-174.

Zola-Morgan S. and Squire L. R. (1985) Amnesia in monkeys after lesions of the mediodorsal nucleus of the thalamus. *Ann Neurol* **17**, 558-564.

Zola-Morgan S. and Squire L. R. (1993) Neuroanatomy of memory. *Annu Rev Neurosci* **16**, 547-563.

# Annexes

# Annexe 1

## **Pertinence du modèle animal d'alcoolisation chronique**

Dans notre laboratoire, un « modèle animal » de l'amnésie diencephalique d'origine alcoolique a été mis au point en soumettant des souris Balb/c à une consommation chronique d'alcool (CCA).

L'utilisation de l'animal de laboratoire ayant pour but d'étudier certaines fonctions cognitives ou certaines pathologies rencontrées chez l'homme, deux critères sont requis pour réaliser un modèle animal "valide": induire des atteintes neurobiologiques semblables à celles observées dans la pathologie humaine avec le même facteur étiologique, et objectiver des troubles cognitifs comparables à ceux observés en clinique humaine. Même si le degré de similarité avec le syndrome humain peut buter sur certaines difficultés telles que les différences phylogénétiques d'organisations cérébrales qui peuvent jouer sur les systèmes d'apprentissages et de mémoire, le modèle animal développé au sein du laboratoire permet d'obtenir un ensemble de données comportementales et neurobiologiques cohérent avec celles mentionnées dans l'amnésie diencephalique d'origine alcoolique.

Les travaux effectués au laboratoire montrent que la CCA induit chez la souris Balb/c une amnésie antérograde dans une épreuve d'alternance différée lorsque l'intervalle entre essais est long (6 heures) mais non lorsque les délais sont courts (30 secondes ou 5 minutes) (Béracochéa et al, 1985 ; 1989 ; Tako et al, 1991). L'amnésie antérograde est provoquée par un trouble de la phase de rappel des informations dans la mesure où une modification du contexte expérimental (Béracochéa et al, 1987 ; Tako et al, 1991) ou l'administration



d'agents pharmacologiques (physostigmine ou  $\beta$ CCM) au moment de l'essai de rétention (Béracochéa et al, 1986 ; Borde et al, 1996) suppriment le déficit de mémoire. La CCA perturbe l'alternance séquentielle, ce qui se traduit par une vulnérabilité accrue aux interférences (Béracochéa et Jaffard, 1985).

Sur le plan des atteintes neurobiologiques, la CCA provoque des troubles modérés de l'activité cholinergique dans l'hippocampe et le cortex frontal (Béracochéa et al, 1992) ainsi que des pertes cellulaires importantes dans les corps mamillaires de l'hypothalamus (Lescaudron et al, 1984). L'étude longitudinale de l'activité métabolique cérébrale à l'échelon régional par la méthode du 2-DG, révèle l'atteinte progressive et sélective des corps mamillaires, des noyaux thalamiques et du cortex cingulaire antérieur (Bontempi et al, 1996), ce qui confirme les études anatomiques antérieures. La lésion expérimentale des corps mamillaires reproduit le déficit mnésique des souris soumises à une CCA (Béracochéa et Jaffard, 1987) et sa suppression par modification du contexte expérimental lors de l'essai de rétention. Ces données confirment l'implication des structures mamillaires dans les troubles du rappel des animaux soumis à une CCA.

L'ensemble de ces données suggère que les troubles mnésiques des animaux soumis à une CCA sont avant tout liés à une perturbation des processus de restitution et seraient à mettre en relation avec l'atteinte des corps mamillaires. Cependant, le modèle animal développé au laboratoire suscite certaines critiques. Une première critique concerne le phénomène de sevrage. En effet, dans la mesure où nous travaillons sur les atteintes mnésiques et neurobiologiques provoquées par la consommation chronique d'alcool et que nous souhaitons nous affranchir du problème d'alcoolémie, nous sommes dans l'obligation de sevrer les animaux préalablement à toute expérience comportementale. Même si ce sevrage

est progressif afin d'en minimiser les conséquences neurobiologiques et cognitives , nous ne pouvons pas exclure que les atteintes structurelles et fonctionnelles observées sur ce modèle puissent être en partie liées au choc physiologique du sevrage.

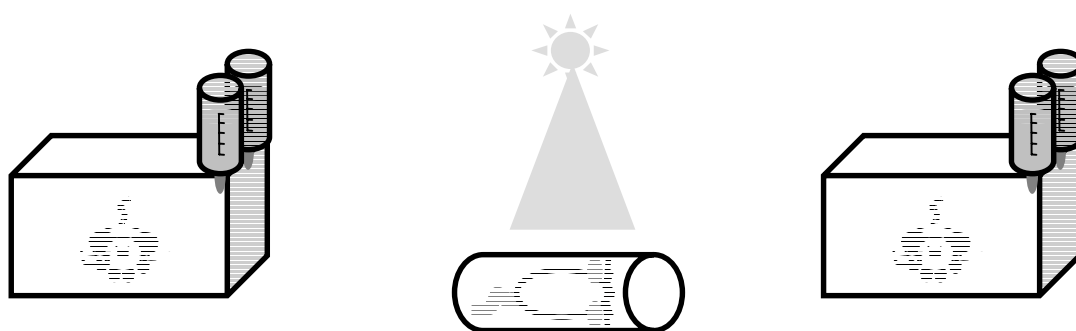
Une seconde critique concerne le mode d'administration de l'éthanol. Les animaux absorbent l'alcool par voie orale. De ce fait, ce modèle est plus proche du mode d'administration utilisé par l'homme que certains modèles utilisant par exemple l'injection intraveineuse, intrapéritonéale, l'intubation gastrique ou l'inhalation. Cependant, l'administration orale est forcée puisque les animaux n'ont pas le choix, l'alcool étant l'unique boisson mise à leur disposition.

Ces deux critiques, concernant le phénomène de sevrage et l'aspect non volontaire de la consommation d'alcool font toute deux références à la notion de dépendance. La bibliographie concernant la dépendance est dense et nous ne ferons pas ici de synthèse à ce propos. Cependant, nous pouvons affirmer que le phénomène de sevrage est intimement lié au phénomène de dépendance, puisque la plupart des études comportementales sur le sujet considèrent l'apparition des symptômes de sevrage comme la preuve de l'existence d'une dépendance vis à vis de la molécule étudiée. De plus, l'intensité des signes de sevrage cités précédemment serait proportionnelle au degré de dépendance physique. De même, une souris ne va consommer volontairement de l'éthanol que si elle développe une dépendance physique vis à vis de cette molécule.

Ainsi, nous avons voulu évaluer l'état de dépendance des animaux afin d'examiner plus précisément la pertinence de ces 2 critiques. Pour ce faire, répondons à la question suivante :

Les souris soumises au protocole d'alcoolisation chronique forcée consomment-

## Procédure expérimentale



4 semaines « pré- stress »

2 semaines « stress »

2 semaines « post- stress »

15 minutes/jours

1300lux

### Mesures hebdomadaires:

- Poids des animaux

- quantités d'eau, d'alcool et de liquide totale consommées

Figure A1.I: Protocole expérimental de l'étude de la dépendance à l'alcool

elles volontairement de l'alcool si elles ont la possibilité de choisir après sevrage ?

## **I. PROTOCOLE EXPERIMENTAL** (Cf. Figure A1.I)

Pour cette expérience, nous avons utilisé deux groupes de souris Balb/c. Le premier groupe (« Sevrés » ; N=8) est constitué d'animaux soumis au protocole d'alcoolisation chronique décrit dans le chapitre II. Le second groupe (« Naïfs » ; N=11) est constitué d'animaux provenant du groupe « eau » ou « amisol » (les souris "amisol" reçoivent une solution de dextri-maltose isocalorique à la solution d'éthanol, pendant un laps de temps identique à la période de traitement des souris alcoolisées). Excepté la boisson proposée au animaux, les conditions d'élevage sont strictement identiques pour les 2 groupes. Après le sevrage progressif sur 3 semaines des animaux alcools et amisols, toutes les souris ont été isolées en cages individuelles avec un accès libre à 2 biberons distributeurs de boisson placés côte à côte, l'un contenant un volume connu d'alcool à 12%, l'autre contenant un volume connu d'eau sucrée (proportion de saccharose identique à celle de la préparation alcoolisée). Les animaux sont pesés, et les volumes d'eau et d'alcool ingérés sont mesurés de façon hebdomadaire pendant 4 semaines. A l'issue de cette première phase (phase « pré-stress »), tous les animaux sont quotidiennement soumis à un stress de contention pendant 14 jours consécutifs (phase « stress »). Le stress de contention consiste à placer les souris dans un cylindre de Plexiglas transparent (longueur : 11 cm ; diamètre : 2.5 cm), exposé à une lumière de forte intensité (1300 lux) pendant 15 minutes. Les animaux sont pesés et leurs consommations respectives d'eau et d'alcool sont mesurées de façon hebdomadaire pendant les 2 semaines de stress chronique (phase « stress ») et pendant les 2 semaines suivantes (phase « post-stress »).

## Evolution du poids des animaux

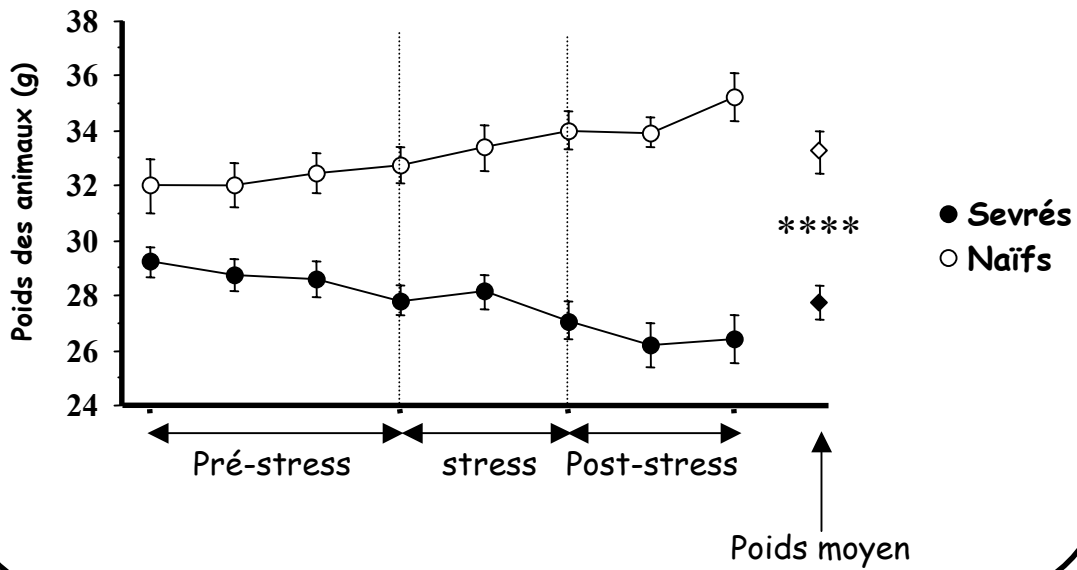


Figure A1.II: Etude de l'évolution du poids des animaux « Sevrés » et « Naïfs » au cours des différentes phases de l'expérience.

## Evolution de la consommation totale de liquide

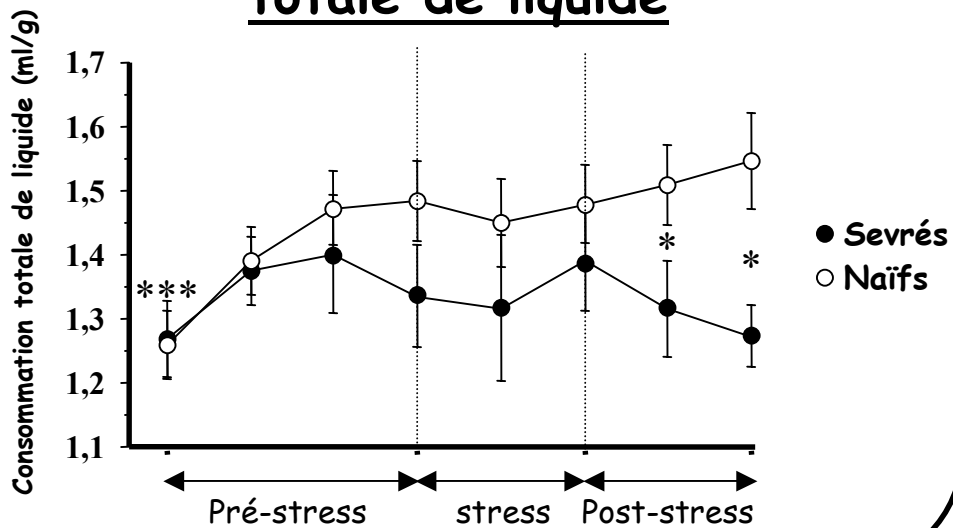


Figure A1.III: Etude de l'évolution de la consommation totale de liquide des animaux « Sevrés » et « Naïfs » durant les différentes phases de l'expérience

## II. RESULTATS

### **A. ETUDE DU POIDS DES ANIMAUX (Cf. Figure A1.II)**

Une analyse globale ANOVA en mesure répétée portant sur l'évolution du poids des animaux (pesées hebdomadaires) au cours des 2 mois d'expérimentation indique un effet significatif de la mesure répétée ( $F(7,119) = 2.25$  ;  $p = 0.035$ ), un effet significatif du groupe (« Sevrés » vs « Naïfs » :  $F(1,17) = 28.2$  ;  $p < 0.0001$ ) ainsi qu'une interaction significative Mesure répétée X Groupe ( $F(7,119) = 42.8$  ;  $p < 0.0001$ ). Plus précisément, ces résultats indiquent que les animaux « Sevrés » présentent un déficit pondéral par rapport aux animaux « Naïfs » (Poids moyens :  $27.8 \pm 0.6$  g et  $33.3 \pm 0.6$  g respectivement). De plus, la différence pondérale entre les 2 groupes s'accroît au cours des 2 mois d'expérimentation puisque le poids des animaux « Sevrés » diminue de semaines en semaines alors qu'au contraire, le poids des animaux « Naïfs » augmente au cours du temps.

Cette différence pondérale pouvant être à l'origine d'une différence de consommation diésique, les quantités d'alcool, d'eau et la quantité totale de liquide ingérée (eau + alcool) ont été converties en unité de volume par unité de poids (ml/g).

### **B. ETUDE DE LA QUANTITE TOTALE DE LIQUIDE ABSORBEE (Cf. Figure A1.III)**

Une Analyse globale ANOVA en mesure répétée portant sur la quantité totale de liquide absorbée au cours des 8 semaines d'expérimentation montre que l'effet groupe n'est pas significatif ( $F(1,17) = 1.95$  ;  $p = 0.15$ ). En revanche, on observe un effet significatif de la mesure répétée ( $F(7,119) = 3.5$  ;  $p = 0.002$ ) et l'interaction Mesure répétée X Groupe est également significative ( $F(1,119) =$

2.5 ;  $p = 0.02$ ).

Une analyse plus précise concernant chacune des 3 phases successives indique un effet significatif de la mesure répétées en phase « pré-stress » ( $F(3,51) = 12.84$  ;  $p < 0.0001$ ) mais il n'y a aucun effet groupe ( $F < 1.0$ ) et l'interaction Mesure répétée X Groupe n'est pas significative ( $F(3,51) = 2.7$  ;  $p > 0.05$ ). Ces données indiquent que les animaux consomment significativement moins de liquide la première semaine ( $p < 0.001$  pour toutes les comparaisons) que les 3 semaines suivantes au cours desquelles le comportement dipsique se stabilise et ce, quel que soit le groupe considéré. En phase « stress », ni la mesure répétée ( $F(1,17) = 1.15$  ;  $p = 0.3$ ), ni le groupe ( $F(1,17) = 1.15$  ;  $p = 0.3$ ) n'ont d'effets significatifs et l'interaction n'est pas significative non plus ( $F < 1.0$ ). Ces données montrent que la consommation totale de liquide est similaire pour les 2 groupes expérimentaux et reste stable pendant les 2 semaines de stress chronique. En phase « post-stress », l'effet du groupe est significatif ( $F(1,17) = 6.55$  ;  $p = 0.02$ ) alors que la mesure répétée est sans effet ( $F < 1.0$ ) et l'interaction n'est pas significative ( $F(1,17) = 1.55$  ;  $p = 0.2$ ). Ces données indiquent que la consommation totale de liquide est stable durant les 2 semaines suivant le stress chronique pour chacun des 2 groupes expérimentaux, mais elle est significativement réduite chez les animaux « Sevrés » par rapport aux « Naïfs » (consommation totale inférieure à  $1.3 \pm 0.07$  ml/g pour les Sevrés et supérieure à  $1.5 \pm 0.07$  ml/g pour les Naïfs ;  $p = 0.02$ ).

En résumé, les données précédentes montrent i) que la consommation totale de liquide des animaux « Sevrés » et « Naïfs » met une semaine à se stabiliser, ii) qu'elle est comparable pour les 2 groupes avant et pendant le stress chronique de contention, iii) qu'elle est réduite chez les animaux « Sevrés » par rapport aux « Naïfs » pendant les 2 semaines suivant le stress chronique.

## Evolutions des consommations d'eau et d'alcool

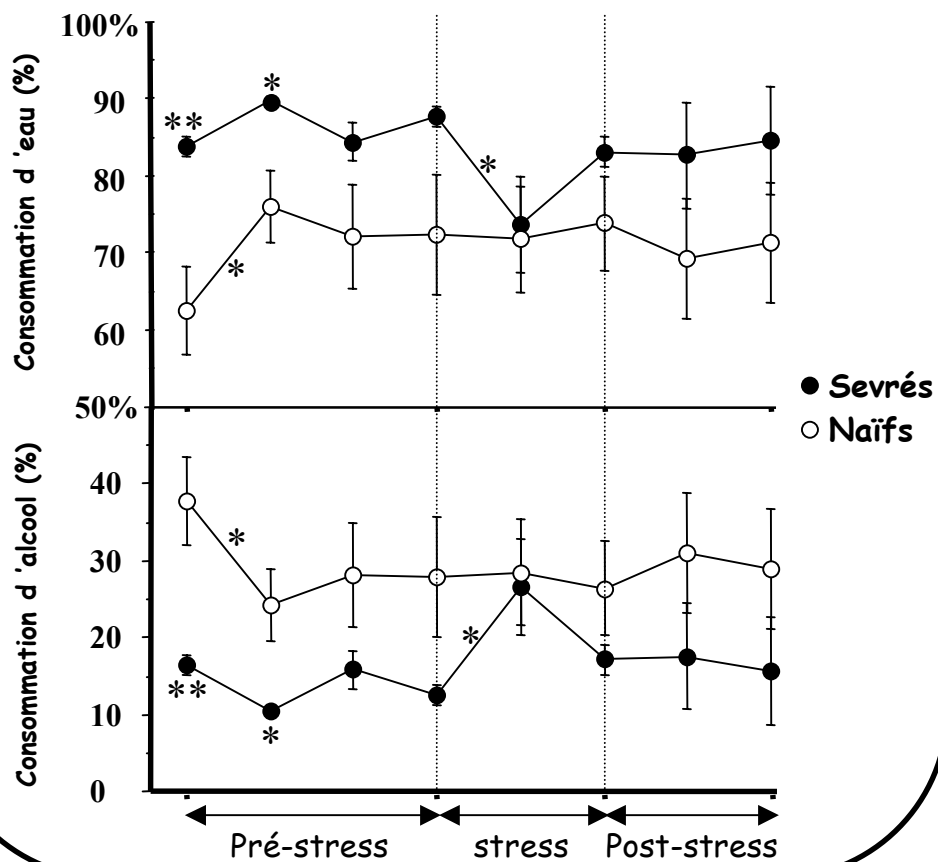


Figure A1.IV: Etude de l'évolution des consommations d'eau et d'alcool des animaux « Sevrés » et « Naïfs » durant les différentes phases de l'expérience



Du fait des fluctuations de la consommation totale de liquide au cours du temps et en fonction du groupe, les quantités d'alcools et d'eau ingérées (en ml/g) ont été rapportées à la quantité totale de liquide absorbée (en ml/g) puis multipliées par 100.

### C. ÉTUDE DE LA CONSOMMATION D'ALCOOL (Cf. Figure A1.IV)

Nous ne détaillerons, dans les analyses suivantes, que les résultats concernant la consommation d'alcool, dans la mesure où la consommation d'eau est l'image en miroir et que les valeurs statistiques sont strictement identiques.

Une analyse globale ANOVA en mesure répétée portant sur le pourcentage d'alcool consommé pendant les 8 semaines d'expérimentation indique un effet significatif de la mesure répétée ( $F(7,119) = 2.1$  ;  $p = 0.045$ ). En revanche, l'effet groupe n'est pas significatif ( $F(1,17) = 2.7$  ;  $p = 0.1$ ) et l'interaction Mesure répétée X Groupe n'est pas significative ( $F(7,119) = 1.3$  ;  $p = 0.2$ ).

Une analyse plus précise concernant chacune des 3 phases successives indique un effet significatif de la mesure répétées en phase « pré-stress » ( $F(3,51) = 6.2$  ;  $p < 0.001$ ) ainsi qu'un effet groupe ( $F(1,17) = 4.9$  ;  $p = 0.04$ ) mais l'interaction Mesure répétée X Groupe n'est pas significative ( $F(3,51) = 1.4$  ;  $p = 0.25$ ). Ces données indiquent que les animaux « Sevrés » consomment un pourcentage d'alcool significativement plus faible que les animaux « Naïfs » (consommation d'alcool inférieure à  $16.5 \pm 1.4$  % pour le groupe « Sevré » et supérieure à  $24 \pm 4.6$  % pour le groupe « Naïf » ;  $p = 0.04$ ). De plus, les animaux du groupe « Naïf » consomment significativement plus d'alcool la première semaine ( $37.7 \pm 5.7$  %) que les 3 semaines suivantes ( $24.1 \pm 4.7$  ;  $p = 0.001$ ;  $28.1 \pm 6.6$  ; ns et  $27.7 \pm 7.8$  ; ns) où la consommation d'alcool diminue et se stabilise. Durant la première

semaine de stress chronique, la consommation d'alcool des animaux du groupe « Sevré » passe de  $13,3 \pm 1.3\%$  (dernière semaine de la phase « pré-stress ») à  $26.6 \pm 6\%$  (première semaine de la phase « stress » ;  $p = 0.05$ ). En phase « stress », ni la mesure répétée ( $F(1,17) = 2.7$  ;  $p = 0.1$ ), ni le groupe ( $F < 1.0$ ) n'ont d'effets significatifs et l'interaction n'est pas significative non plus ( $F < 1.0$ ). Ces données montrent que la consommation d'alcool est similaire pour les 2 groupes expérimentaux et reste stable pendant les 2 semaines de stress chronique. En phase « post-stress », ni la mesure répétée ( $F(1,17) = 2.1$  ;  $p = 0.15$ ), ni le groupe ( $F(1,17) = 1.5$  ;  $p = 0.25$ ) n'ont d'effets significatifs et l'interaction n'est pas significative non plus ( $F < 1.0$ ). Ces données indiquent que la consommation d'alcool est stable durant les 2 semaines suivant le stress chronique et comparable pour les 2 groupes expérimentaux. Il est intéressant cependant de noter que la variabilité interindividuelle, relativement faible chez les animaux « Sevrés » pendant la première phase de l'expérience, est considérablement accrue après la phase de stress chronique, ce qui suggèrent que certains animaux continuent à boire alors que d'autres reviennent à une consommation plus modérée.

**En résumé, les données précédentes indiquent i) que les animaux du groupe « Sevré » consomment significativement moins d'alcool que les animaux Naïfs durant la phase précédant le stress chronique de contention, ii) que les animaux « Naïfs » consomment un pourcentage important d'alcool la première semaine de l'expérimentation (effet probablement lié à la nouveauté de la boisson) puis réduisent et stabilisent leur consommation jusqu'à la fin de l'expérimentation, iii) que le stress chronique de contention entraîne une augmentation de l'ingestion d'éthanol chez les animaux « Sevrés », alors qu'il est sans effet sur la consommation des animaux « Naïfs », de fait, en phase « stress », les animaux « Sevrés » ne diffèrent plus des « Naïfs », iv) que durant la phase « post-stress », la consommation d'alcool est**

comparable pour les 2 groupes et reste stable, avec toutefois une augmentation importante de la variabilité interindividuelle chez les animaux Sevrés.

### III. DISCUSSION

Finally, l'ensemble des données précédentes montrent que les animaux sevrés consomment préférentiellement de l'eau lorsqu'ils ont le choix entre l'eau et l'alcool. Cependant, même si leur consommation reste toujours plus faible que celle des animaux naïfs, ils boivent néanmoins une quantité d'éthanol supérieure à 10 % de leur consommation dipsique totale. Ainsi, ils n'évitent pas l'alcool mais se cantonnent à des quantités relativement modérées, ce qui suggère que bien qu'elle soit forcée, l'intoxication chronique à l'alcool n'est pas aversive. Le fait que leur consommation d'alcool soit globalement inférieure à celle des animaux naïfs suggère que leur degré de dépendance vis à vis de la molécule est relativement faible, ce qui permet de penser que les conséquences du sevrage sont assez limitées. L'observation des animaux à la fin de l'alcoolisation chronique confirme cette hypothèse puisqu'elle ne révèle aucun des symptômes comportementaux habituellement observés lors du sevrage (hyperactivité locomotrice, posture et démarche anormale, agitation/anxiété, stéréotypies, raidissement de la queue, ébrouements, tremblements et claquements de dents). D'après les théories actuelles, les signes comportementaux du sevrage résultent de processus neuroadaptatifs (notamment l'augmentation neurotoxique de la transmission glutamatergique) qui seraient responsables de certaines altérations neurobiologiques. Dans la mesure où nos animaux ne semblent pas ou peu dépendants, le sevrage relativement aisé, et qu'ils n'expriment aucun symptôme de sevrage, nous pouvons penser que le sevrage n'a provoqué aucune altération neurobiologique sérieuse. Les atteintes mnésiques et les changements de

morphologie cérébrale observés chez ces animaux résulteraient alors exclusivement de l'alcoolisation à long terme et non du choc physiologique lié au sevrage.

Par ailleurs, les données précédentes indiquent que les animaux sevrés, lorsqu'ils sont soumis à un stress chronique augmentent significativement leur consommation volontaire d'alcool. Chez l'homme, l'abus d'alcool est souvent lié à l'expérience du stress (McCreary et Savada, 2000); on sait notamment que les risques de rechute chez un individu en sevrage sont étroitement liés à son état affectif. Les liens existants entre la consommation excessive d'alcool et l'état émotionnel font l'objet d'une hypothèse (« tension reduction hypothesis »), qui postule que l'effet anxiolytique de l'alcool est responsable de son effet renforçant et que les états d'anxiété élevée prédisposent à la consommation d'éthanol et à l'addiction. De même, l'alcool induit des troubles émotionnels qui souvent conduisent le sujet à rechercher l'alcool pour ses effets anxiolytiques (Kushner et al, 1994). Concernant cette hypothèse, les données recueillies chez l'homme sont relativement contradictoires, probablement du fait de l'hétérogénéité des échantillons de patients étudiés. La recherche sur l'animal tente d'élucider plus précisément les liens existant entre le stress et l'abus d'alcool (Livezey et al, 1987). Les résultats de cette recherche ne sont pas toujours homogènes puisque certaines études montrent que certaines conditions de stress réduisent la consommation d'alcool, d'autres l'accroissent et enfin certaines sont sans effet. L'hétérogénéité de ces résultats est attribuée aux différences de procédures expérimentales, comme les conditions d'élevage, le mode d'administration de l'éthanol (forcé versus volontaire), le type de stress et sa durée... , mais globalement, les auteurs s'accordent sur le fait qu'il existe bien un lien entre stress et conduites addictives.

Dans notre modèle, le stress chronique de contention accroît la consommation volontaire d'alcool, ce qui constitue un argument en faveur de l'hypothèse « tension reduction hypothesis » et rapproche notre modèle de certains résultats obtenus chez l'homme. Certaines études, réalisée chez le rat aboutissent à des résultats comparables et montrent que le noyau central de l'amygdale (Moller et al, 1997) d'une part et l'activation de l'axe corticotrope, notamment la sécrétion d'ACTH (Nash et Maickel, 1988) d'autre part, jouent un rôle crucial dans l'induction de la consommation d'alcool par le stress.

Dans leur ensemble, les résultats de cette expérience suggèrent que les animaux sevrés sont spontanément faiblement dépendants. Le choc du sevrage est de ce fait peu intense et il est peu probable qu'il soit responsable des lésions et troubles cognitifs observés dans notre modèle. L'exposition des animaux sevrés à un stress chronique entraîne une augmentation de la consommation volontaire d'alcool, résultat rappelant fortement le phénomène de « rechute » relaté chez l'homme. Ces deux conclusions renforcent la pertinence de notre procédure en tant que modèle animal de l'amnésie diencéphalique d'origine alcoolique.

# Annexe 2

## **Le paradoxe du noyau paraventriculaire de l'hypothalamus (PVN)**

Notre étude immunohistochimique révèle une réduction de l'intensité du marquage dans la portion parvicellulaire du noyau paraventriculaire de l'hypothalamus (PVN) chez les animaux choqués par rapport aux animaux non choqués. Ce résultat est en contradiction totale avec l'ensemble de la littérature. En effet la plupart, sinon toutes les études immunohistochimiques (étude de l'expression de la protéine Fos) ou en hybridation (étude de l'induction de l'ARNm *c-fos*) concernant les effets du stress sur l'activité du cerveau montrent que de nombreux stimuli stressants comme l'application de chocs électriques aux pattes, l'immobilisation forcée (Imaki et al, 1992, 1993 ; Covenas et al, 1993 ; Harbuz et al, 1993) ou l'injection IP de solvant (Sharp et al, 1991), induisent toujours une augmentation de la transcription et/ou de l'expression de Fos dans le PVN. Notre résultat semble d'autant plus paradoxal que notre étude endocrinienne révèle une augmentation significative de la concentration de corticostérone plasmatique chez les animaux choqués par rapport aux animaux non choqués. Or le point de départ de la cascade d'événements biologiques aboutissant à une libération massive de glucocorticoïdes dans la circulation générale se situe justement dans les neurones parvicellulaires du PVN synthétisant et sécrétant la CRH. Or de nombreuses études stipulent que la plupart des cellules du PVN dans lesquelles on observe une activation *c-fos* sécrètent la CRH (Covenas et al, 1993 ; Harbuz et al, 1993) ou expriment les récepteurs aux glucocorticoïdes (Kononen et al, 1992). De plus, l'administration intra-cérébro-ventriculaire de CRH induit une

augmentation de l'expression de Fos qui peut être abolie par l'administration préalable d'un antagoniste compétitif de la CRH (Arnold et al, 1992).

Une des hypothèses pour expliquer ce paradoxe est que, dans notre protocole, le stress est suivi d'une épreuve de restitution mnésique. Le résultat immunohistochimique que nous obtenons est donc la résultante de deux expériences successives. En d'autres termes, nous n'observons pas l'effet du stress sur le marquage Fos comme dans la plupart des études citées précédemment mais nous observons les répercussions d'un stress sur la restitution mnésique en utilisant la protéine Fos comme marqueur. Il est possible que la juxtaposition des deux expériences modifie la réponse classique du PVN. Afin de tester cette hypothèse, nous avons procédé à une expérience complémentaire afin de déterminer l'impact de l'expérience aversive (chocs électriques) seule, c'est à dire non suivie de l'essai de restitution, sur l'intensité du marquage immunohistochimique dans le PVN.

## **I. PROCEDURE EXPERIMENTALE ET CONSTITUTION DES GROUPES**

### **A. PROTOCOLE EXPERIMENTAL**

Les animaux sont placés pendant 1 minute dans la chambre de conditionnement. Les animaux choqués reçoivent 3 chocs électriques successifs (0.9 mA ; 2 sec) au bout de 10 secondes, 30 secondes et 50 secondes puis sont replacés dans leur cage habituelle à l'animalerie. Les animaux non choqués sont placés dans les mêmes conditions expérimentales mais ne reçoivent pas de choc électrique. La cage de conditionnement est nettoyée à l'alcool à 95% puis à l'eau entre chaque animal. Les animaux sont anesthésiés, perfusés et leur cerveau est prélevé 1h40 après la fin de l'expérience aversive pour l'étude

## Effet du choc électrique sur l'expression de la protéine Fos (sans l'épreuve mnésique)

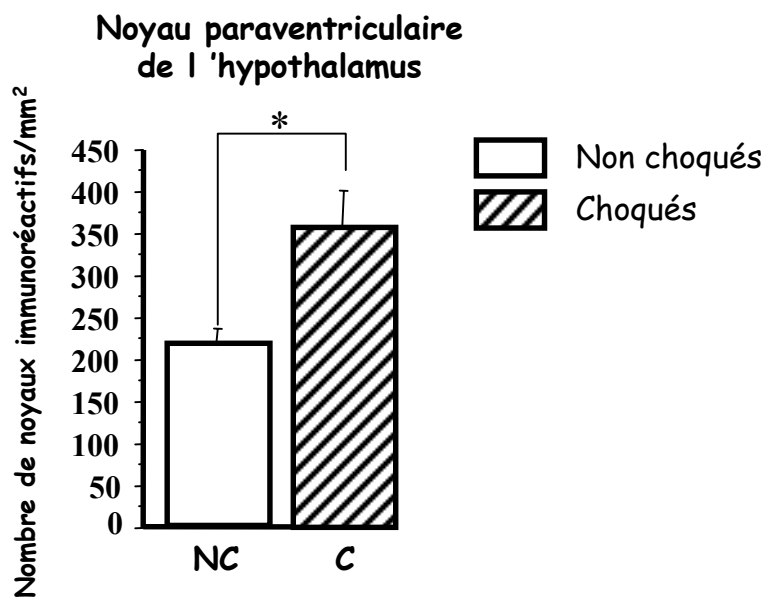


Figure A.1 : Effet du choc électrique sur l'expression de la protéine Fos



immunohistochimique. Ce délai de sacrifice est ainsi strictement comparable à celui des souris ayant effectué la totalité de l'épreuve, c'est à dire l'expérience aversive suivie 5 minutes après, de l'essai de rétention dont la durée est de 6 minutes. Les souris utilisées dans cette expérience sont soumises à une privation partielle de nourriture, même si elles n'effectuent pas l'épreuve mnésique, afin d'être placées dans des conditions identiques à celles des souris effectuant l'essai de restitution.

## **B. CONSTITUTION DES GROUPES EXPERIMENTAUX**

Pour cette expérience complémentaire, nous avons utilisé 6 souris réparties en deux groupes :

Souris Choquées : **N = 3** et Souris Non Choquées : **N = 3**

## **II. RESULTATS**

Une analyse factorielle indique une différence significative entre les groupes choqués et non choqués ( $F(1,4) = 9.25$  ;  $p = 0.035$ ). Plus précisément, l'intensité du marquage dans le PVN est plus importante chez les animaux choqués ( $357 \pm 42$  noyaux immunoréactifs/mm<sup>2</sup>) que chez les animaux non choqués ( $216 \pm 19$  noyaux immunoréactifs/mm<sup>2</sup>). (Cf. Figure A.1)

Par ailleurs, si on compare ces résultats avec ceux obtenus chez les animaux réalisant l'épreuve mnésique successivement, on observe un effet significatif de la présence de l'essai de rétention ( $F(1,18) = 11.2$  ;  $p = 0.0035$ ). Plus précisément, que les animaux soient choqués ou non choqués, le marquage est plus intense dans le PVN pour le groupe réalisant les 2 expériences successives (épreuve aversive puis épreuve mnésique) ( $556 \pm 53$  noyaux immunoréactifs/ mm<sup>2</sup>) que pour le groupe soumis uniquement à l'épreuve aversive ( $287 \pm 38$  noyaux immunoréactifs/

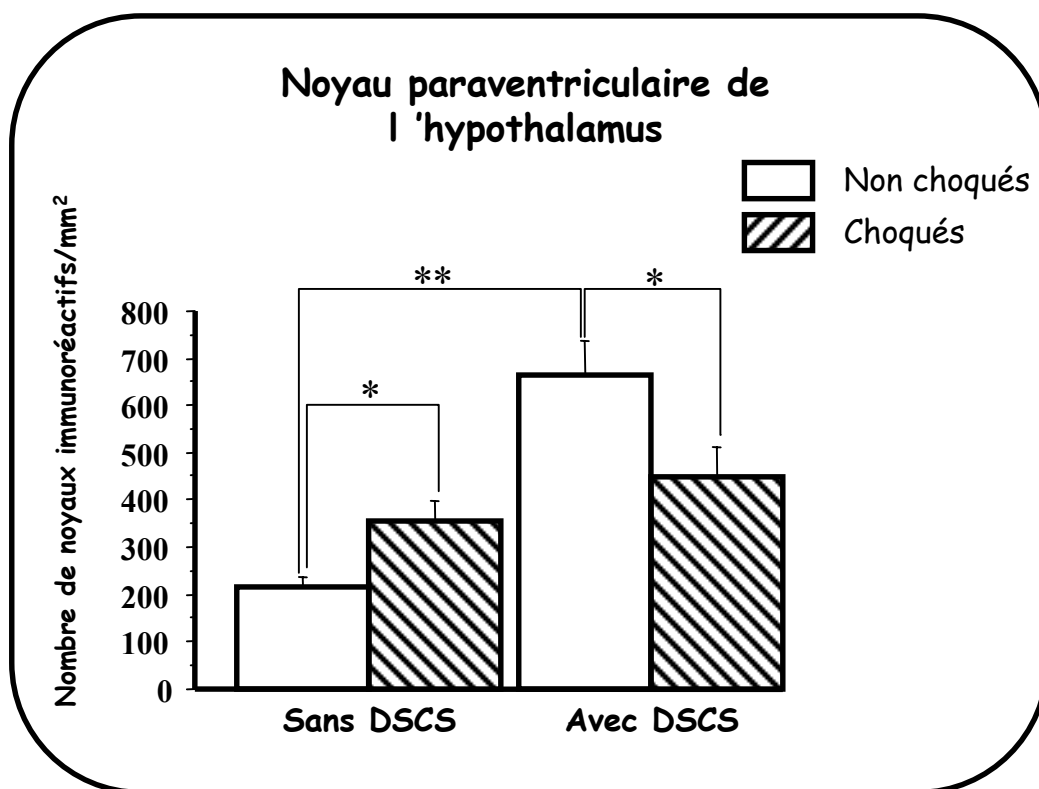


Figure A.2 : Effet du choc électrique sur l'expression de la protéine Fos avec ou sans l'épreuve mnésique (DSCS) consécutive

mm<sup>2</sup>). Cependant, l'ajout de l'épreuve mnésique induit une augmentation du marquage beaucoup plus importante chez les animaux non choqués (épreuve aversive seule :  $216 \pm 19$  versus épreuve aversive + épreuve mnésique :  $663 \pm 71$  ;  $F(1,9) = 13.7$  ;  $p = 0.005$ ) que chez les animaux choqués (épreuve aversive seule :  $357 \pm 42$  versus épreuve aversive + épreuve mnésique :  $449 \pm 61$  ;  $F < 1.0$ ). (Cf. Figure A.2)

### III. DISCUSSION

Nos résultats indiquent donc que l'expérience aversive (choc électrique) lorsqu'elle est effectuée seule, induit bien une augmentation de l'intensité du marquage immunohistochimique dans le noyau paraventriculaire de l'hypothalamus par rapport aux animaux non choqués. Ce résultat est totalement en accord avec la littérature. Ces données suggèrent donc que le résultat paradoxal obtenu chez les animaux des expériences décrites au chapitre IV (à savoir une réduction du marquage dans le PVN chez les animaux choqués par rapport aux animaux non choqués) est lié à la juxtaposition de l'expérience mnésique et de l'expérience aversive. Cette interprétation est d'ailleurs confortée par l'observation d'une augmentation du marquage dans le PVN chez les animaux effectuant les 2 expériences successives par rapport aux animaux subissant uniquement l'expérience aversive. En fait, le choc seul induit une augmentation de l'expression de la protéine Fos dans le PVN par rapport à des témoins non choqués. L'épreuve de restitution mnésique induit également une augmentation de l'expression de la protéine Fos dans le PVN chez tous les animaux. Ce que nous observons dans le PVN est la résultante de ces 2 activations successives. Cependant, on observe que la réalisation de la tâche mnésique induit une augmentation du marquage bien moindre chez les animaux choqués que chez les animaux

non choqués. En fait, il semble que l'épreuve mnésique induit un "stress" par elle-même. Les animaux choqués au préalable seraient moins sensibles au caractère aversif du test de mémoire que les animaux non choqués. La dimension "aversive" de l'essai de restitution peut être expliquée en terme de frustration. En effet, lors du test, les trous ne sont plus appâtés, or les animaux sont partiellement privés en nourriture et ont appris la veille, dans le même contexte, à trouver de la nourriture. Les animaux ayant subi au préalable une expérience aversive traumatisante (Chocs électriques incontrôlables) seraient moins affectés par la frustration en l'absence d'agent renforçant alimentaire, expérience désagréable certes, mais moins que celle qui a précédé.

## **ETUDE DES EFFETS DU STRESS SUR LES PROCESSUS DE RESTITUTION MNESIQUE CHEZ LA SOURIS NORMALE OU ALCOOLISEE : APPROCHES COMPORTEMENTALE, PHARMACOLOGIQUE ET NEUROBIOLOGIQUE**

Notre travail visait à caractériser, tant d'un point de vue comportemental que neurobiologique, une interaction entre le stress et la restitution mnésique chez la souris normale, âgée ou soumise à une consommation chronique d'alcool. A cet effet, nous avons développé un outil comportemental original (Discriminations Spatiales Contextuelles Sérielles, DSCS). L'épreuve comportementale de DSCS permet d'une part, d'objectiver l'interaction entre stress et restitution mnésique et d'autre part, elle permet d'étudier les composantes spatiale, temporelle et contextuelle d'un souvenir ainsi que leur modulation par le stress. Parallèlement à l'étude comportementale, nous avons entrepris une étude immunohistochimique de l'expression de la protéine Fos, une étude endocrinienne de dosage de la corticostérone plasmatique ainsi qu'une étude pharmacologique ciblant les neurotransmissions Gabaergiques et Cholinergiques. Ces études visaient à déterminer les substrats neurobiologiques et hormonaux impliqués dans l'épreuve mnésique et affectés par le stress. Nos résultats montrent i) que le stress (choc électrique) module sélectivement le rappel d'un souvenir indépendamment des phases d'acquisition et de consolidation ii) que la sécrétion de corticostérone induite par le stress est impliquée dans la modulation de la restitution mnésique iii) que les neurotransmissions gabaergique et cholinergique modulent également les processus de restitution iv) que le vieillissement perturbe l'apprentissage des éléments temporels et contextuels de l'information et s'accompagne d'un affaiblissement généralisé de l'activation cérébrale v) que l'alcoolisation chronique préserve la capacité d'utilisation des éléments contextuels mais perturbe la capacité à mettre en relation contexte et ordre sériel et s'accompagne d'un dysfonctionnement de la voie subiculo-mamillaire. Finalement, notre travail indique que les processus mnésiques et émotionnels interagissent et que les modifications neurobiologiques induites par l'alcoolisation chronique et le vieillissement affectent différemment cette interaction mémoire/émotions.

### **MOTS-CLES**

**Memoire, Amnésie, Restitution, Emotions, Stress, Alcool, Vieillesse, Corticostérone, Réseaux neuronaux, Souris.**

### **EFFECTS OF STRESS ON RECALL IN NORMAL AND ALCOHOL-TREATED MICE : BEHAVIORAL, PHARMACOLOGICAL AND NEUROBIOLOGICAL STUDIES**

The effects of stress on memory are well known but stress can either improve or impair performance according to the stressor or the type of memory tested. Moreover, previous studies have focused exclusively on this effect of stress on acquisition and long-term storage of newly acquired information but little is known about the effect of stress on recall processes. The first aim of this study was thus to develop a behavioural paradigm to study the interaction between stress and memory retrieval in young, aged and alcohol-treated mice. The second aim was to evaluate the HPA axis response to stress using circulating corticosterone radio-immuno-assay. The third aim was to identify cerebral neural networks activated by testing in the 3 experimental populations, using FOS protein immunocytochemistry. results indicate that i) stress specifically affects retrieval mechanisms ii) stress-induced corticosterone release is involved in recall modulation iii) ageing and long-term alcohol consumption differentially affect memory iv) ageing induces a large decrease of cerebral activation and alcohol consumption impairs the function of the subiculo-mamillary body tract. Finally data show that memory and emotional processes interact via hormonal mechanisms and that ageing and long-term alcohol consumption induce neurobiological modifications that differentially alter memory processes.

### **KEY WORDS**

**Memory, Amnesia, Recall, Emotions, Stress, Alcohol, Aging, Corticosteron, neural network, Mice**