

DEA de Sciences Cognitives, Paris  
Université de Paris VI, 2001-2002

# **Etude électrophysiologique de l'interaction fonctionnelle entre le Complexe Amygdalien et le Locus Coeruleus**

Mémoire de stage de DEA soutenu par

**Selim Onat**

*Laboratoire d'accueille:*      Laboratoire de Neuromodulation et  
processus mnésique, Institut de  
Neurosciences, Université de Paris VI

*Responsable du stage:*      Dr. Susan Sara

## Résumé

Le noyau central amygdalien (CEA) avec le noyau basolatéral (BLA) et le locus coeruleus (LC) forment un réseau de noyau participant à des divers processus comme l'apprentissage associatif, l'attention et modulation des processus mnésiques. Bien que sur le plan anatomique leur interconnexion soit bien caractérisée leur interaction sur le plan fonctionnel n'est pas assez bien connue.

Dans ce travail, on a mis en évidence que la stimulation du CEA et du BLA excite le LC, première caractérisation sur le plan électrophysiologique de l'action du CEA sur le LC. L'action excitatrice du CEA sur le LC rassemble les données obtenues par les chercheurs comme Gallagher qui étudient la relation entre le CEA et l'attention, et les travaux d'autres s'intéressant sur la relation du LC avec l'attention et l'apprentissage.

En plus, durant notre démarche d'identification de la dynamique des activités de ces structures pendant l'application d'un stimulus inconditionnel, nos résultats ont suggéré la possibilité d'une action de la NA sur le BLA. Bien que la causalité de la relation ne puisse pas être déduite à partir de nos résultats, cela a ouvert la possibilité de proposer une voie qui court-circuiterait la voie proposée par McGaugh et ses collègues.



## I. Introduction

Le trait commun de tous les organismes est leur autonomie. L'autonomie suggère, entre autre, que l'organisme peut changer les significations des choses qui l'entourent en fonction de ses besoins. Cela implique que la signification d'un stimulus dépend de son interprétation par l'organisme.

Les activités des aires sensorielles ainsi que le comportement des animaux manifestent une habituation à la présentation multiple d'un stimulus. Après cette habituation, le même stimulus associé à un stimulus inconditionnel (c'est-à-dire un stimulus significatif quelque soit le context) engendre un pattern d'activation sensorielle différent ainsi qu'un comportement réactif. L'association du stimulus à un événement significatif pour l'animal change inévitablement la signification du stimulus présenté; cette modification est indépendant de l'information contenue dans le stimulus lui-même mais nécessite plutôt un certain type d'interprétation par l'organisme en question. Il en découle nécessairement un changement de structuration au sein de l'organisme: l'autonomie des organismes réside en partie dans leur capacité de se remodeler afin d'atteindre à certains but conditionnés par leur structuration interne (*inner directed goal*) (Freeman, 1994). C'est ce qu'on appelle l'*apprentissage*.

Rien ne peut être appris sans que l'attention de l'organisme soit attirée sur l'objet d'apprentissage. C'est pour cette raison que le domaine d'étude d'apprentissage se situe au croisement de celui de l'attention et de la mémoire.

Dans cette étude nous nous intéresserons à l'interaction entre deux structures cérébrales impliquées dans l'attention et l'apprentissage : l'amygdale et le locus coeruleus (LC). Le LC est un noyau noradrénergique (NA) qui fait partie du système ascendant neuromodulateur exerçant diverses influences sur les activités des neurones de plusieurs régions du cerveau. Dans les paragraphes suivants, le LC et l'amygdale seront présentés selon une approche anatomo-fonctionnelle. Après quoi les résultats seront présentés et la partie de discussion permettra de relier les résultats obtenus avec ceux présents dans la littérature.

## II. Anatomie et Fonction du Système Noradrénergique et de l'Amygdale

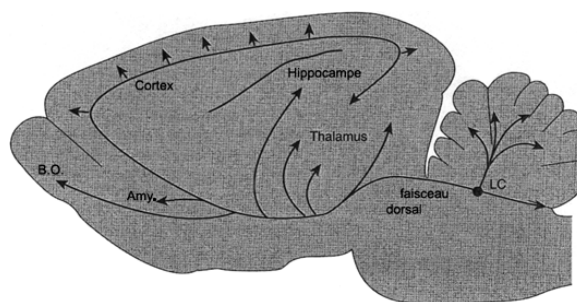
### II.a Le Système Noradrénergique Central

#### *Anatomie fonctionnelle de Locus Coeruleus*

Dans chaque partie latérale, sept noyaux noradrénergiques compacts nommés de A1 à A7 innervant le système nerveux central, situés dans la région du bulbe et du pont ont été trouvés chez le rat. Les noyaux A6 et A4 forment ce qu'on appelle le LC. Le LC se trouve sous la paroi ventro-latérale du 4<sup>ème</sup> ventricule, à la base du cervelet. Il est formé d'environ 1500 cellules (Swanson, 1976), distribuées en plusieurs sous régions. Selon les espèces, le noyau est organisé soit d'une manière compacte (rat et certaines espèces de primates comme par exemple l'homme) ou diffuse (chat, lapin et certaines espèces de primates). A cause de l'organisation compacte de leur LC, le singe et le rat sont des espèces de choix pour les expérimentateurs.

La raison pour laquelle le LC a attiré l'attention des scientifiques réside dans ses connexions avec les autres parties du cerveau. Tandis que les autres noyaux noradrénergiques du tronc cérébral innervent les différentes parties du système nerveux central comme la moelle épinière, l'hypothalamus, le bulbe et le tronc cérébral inférieur, le LC est la seule structure qui innerve (entre autres) le cortex cérébral, le diencephale et le cervelet.

Le LC se projette via le faisceau dorsal majoritairement vers les structures de l'hémisphère ipsilatéral (80 à 90%) (Jones & Moore, 1977). Les majeures efférences du LC sont schématisées dans la figure 1. Bien qu'il existe un consensus sur les structures cibles, la manière dont ces efférences font contact avec ces structures reste un débat.



**Figure 1.** Les efférences majeurs de LC sont présentés sur dessin représentant un cerveau de rat. (Amy : Amygdale ; B.O. : Bulbe olfactif) (Adapté de Zigmund (1995) page 208)

Selon une étude (Beaudet & Descarries, 1978) seulement les 5 % des axones noradrénergiques établiraient des synapses avec les cellules cibles. Le reste interagissant en relarguant la noradrénaline (NA) dans l'espace extracellulaire lui donnant l'occasion de diffuser et agir sur plusieurs neurones pré et/ou post synaptiques. C'est dans cette propriété des cellules noradrénergiques que les modélisateurs de réseaux de neurones à apprentissage

par renforcement ont trouvé une justification biologique de leur signal d'*évaluation générale* lequel est diffusé sur toutes les connexions du réseau afin de réguler et déclencher les événements de plasticité synaptique. Mais, il existe aussi des études qui ont suggéré la possibilité que les cellules noradrénergiques puissent réaliser davantage de synapses avec les cellules cibles (Papadopoulos et al., 1989; Parnavelas et al. 1989).

Les afférences au LC ont été aussi l'objet d'études. L'importance de ces travaux peut être estimé par la grande diversité des connections du LC (voir le paragraphe précédent) avec les autres structures cérébrales. Ainsi une question importante est de savoir comment une structure si divergente, et donc possédant potentiellement une grande influence sur plusieurs parties de cerveau, est contrôlée par ses afférences.

Les études de traçage rétrograde réalisées à partir du centre du LC même ont montré que deux noyaux, le noyau prepositus hypoglossi (impliqué dans le système autonome et l'intégration nociceptive) et le noyau paragigantocellularis (impliqué dans la régulation du système sympathique via ses projections vers la moelle épinière (Loewy & McKellar, 1980)) se projettent directement sur les corps cellulaires des neurones du LC (Aston-Jones et al, 1986). D'autre part, les études de traçage rétrograde réalisées à partir les régions péricoeruléennes mettent en évidence un grand nombre d'afférence au LC (Cedarbaum & Aghajanian, 1978 ; Luppi et al., 1995). Parmi ces afférences, des projections en provenance du cortex frontal (la seule aire corticale qui se projette sur le LC) ont été confirmées par des études anatomiques (Luppi et al., 1995) et fonctionnelles (Sara et al., 1995). Un point particulièrement important pour notre propos est que deux autres études anatomiques, (Van Bockstaele et al., 1996 ; Van Bockstaele et al., 1998), ont mis en évidence l'existence de projections pouvant véhiculer un effet de l'amygdale, plus précisément du noyau central amygdalien (CEA), sur le LC. Le premier de ces travaux a suggéré, pour la première fois la présence de contacts synaptiques entre les projections du CEA et les cellules noradrénergiques dans la région péricoeruléenne. En fait, il a été montré, par la technique de traçage antérograde à partir du CEA combiné à un marquage des cellules possédant de la tyrosine hydroxylase (enzyme impliqué dans la synthèse de NA) qu'une part non négligeable des projections du CEA vers cette région établissaient *des connections directes* avec les dendrites péricoeruléennes des cellules noradrénergiques. Le deuxième de ces travaux de Van Bockstaele et ses collègues a confirmé que le CRF (Corticotropin-Releasing Factor) pouvait jouer un rôle de neurotransmetteur dans la médiation de l'action du CEA sur LC étant donné

que les axones du CEA qui forment des synapses avec les dendrites des cellules noradrénergiques du LC sont marquées par CRF. Bien que ces résultats aient suggéré une forte possibilité d'action du CEA sur le LC, *cette action est encore à être caractérisée sur le plan fonctionnel.*

Par ailleurs certaines afférences du LC proviennent du LC lui-même : les cellules du LC participent à la régulation de leur propre activité par un mécanisme de rétrocontrôle négatif. Pendant l'activation des cellules du LC, la NA est libéré dans le LC même par des collatérales de retour. La NA libérée agit sur les récepteurs inhibiteurs présynaptiques et contrôle ainsi l'activité du LC.

### *Electrophysiologie du LC*

Il est bien établi que le LC est impliqué dans des phénomènes d'attention et d'apprentissage. Dans cette partie, certaines expériences qui ont permis d'éclaircir le rôle du système noradrénergique seront présentées brièvement afin de se resituer dans le contexte.

Les expériences comportementales ont montré que les souris qui ont été mises dans un environnement riche (c'est à dire un environnement qui donne la possibilité d'interaction avec des jouets ainsi qu'avec d'autres individus de la même espèce), pendant 40 jours, possédaient une concentration de NA dans leur cerveau significativement plus élevée que les souris témoins (Naka et al., 2002). Il semblerait donc que la présence de NA serait impliquée dans des conditions nécessitant l'apprentissage et l'attention.

Plusieurs études utilisant une approche lésionnelle (en injectant la neurotoxine spécifique aux cellules noradrénergiques au niveau du faisceau dorsal qui innerve le cerveau antérieur) n'ont pas réussi à apporter une réponse sans équivoque concernant l'implication du LC dans l'apprentissage et l'attention (Pisa & Fibiger, 1983; Selden et al., 1990; pour un review Robbins & Everitt, 1987). On peut préciser que la plupart des animaux lésés réussissaient aussi bien que les animaux témoins plusieurs tâches comportementales, ce qui suggère la possibilité de l'existence de phénomènes de compensation entre les différents systèmes neuromodulateur ascendants comme par exemple l'acétylcholine (Ach).

Les études électrophysiologiques ont permis de mieux entrevoir de quelle manière le LC serait impliqué dans des conditions nécessitant l'apprentissage et l'attention. En fait, les cellules du LC possèdent une activité tonique dont la fréquence de décharge change en fonction de l'état de vigilance de l'animal. Pendant la veille, l'activité des cellules du LC est

au maximum, l'activité diminue pendant le sommeil lent et devient à peu près égale à zéro pendant le sommeil paradoxal (Aston-Jones et al., 1981a). Cela suggère que le niveau de base de NA (déterminé par le taux d'activité tonique) dans le cerveau antérieur pourrait être impliqué dans la régulation de degré de vigilance de l'organisme.

Il est pertinent de citer les effets de la stimulation du LC sur l'électroencéphalogramme. Elle provoque au niveau cortical et au niveau hippocampique une désynchronisation de l'EEG (Berridge et al., 1991; 1993), auxquels sont attribués des états d'attention élevé. Et l'inhibition bilatérale pharmacologique du LC donne lieu à une diminution des composantes à haute fréquence de l'EEG et fait apparaître une activité à ondes lentes et de plus forte amplitude (Berridge et al. 1993).

En plus des variations de leurs activités toniques, les cellules du LC de rat et de singe éveillés s'activent de manière phasique (avec une latence de 15-50msec) à la présentation des stimuli auditifs (Hervé-Minvielle & Sara, 1995), somatosensoriels, visuels (Aston-Jones et al., 1981) et olfactifs (Foote et al., 1980). Les expériences faites chez le singe (Rajkowski et al., 1994) ont montré que les stimuli qui génèrent une réponse d'orientation vers ces stimuli, altérant le comportement en cours, sont ceux qui activent fortement les cellules du LC et de la même manière les stimuli qui réveillent l'animal engendrent les réponses les plus fortes. Les mêmes expériences ont montré que la réponse des cellules du LC est réduite si on présente des stimuli pendant que l'animal est en train de manger ou boire. Par contre, des très grandes réponses sont obtenues si ces stimuli induisent l'arrêt ces comportements. Ces expériences suggèrent que les réponses évoquées par les stimuli sensoriels sont en corrélation avec l'état comportemental de l'animal.

Chez le rat, les cellules du LC s'activent quand le rat rencontre un nouvel objet. Dans ces expériences (Sara et al., 1994), les rats ont été placés dans des cages comportant des trous contenant des objets divers qui ne sont visibles que quand les rats s'approchent vers les trous. L'enregistrement des cellules du LC des rats, laissé libre dans la cage, a mis en évidence une activation phasique des cellules du LC lors de la première rencontre des rats avec un nouvel objet dans le trou. Les cellules ont manifesté une habituation à des rencontres ultérieures avec le même objet. Et à chaque fois que un nouvel objet en remplaçait un autre les cellules du LC s'activaient d'une manière phasique à sa vue.

Ces cellules répondent aussi à la présentation des nouveaux stimuli dans des protocoles de conditionnement (Sara & Segal 1991). Cette activation montre rapidement une



habituation c'est-à-dire que leur activité phasique diminue et disparaît avec les présentations répétées du même stimulus. Ces mêmes cellules habituées donc inactives redeviennent sensibles au même stimulus quand celui-ci est présenté cette fois-ci d'une manière associée à un renforcement (stimulus inconditionnel, US). Mais cette activation montre aussi une habituation aussi au fur et à mesure que le conditionnement s'établit c'est-à-dire que l'animal apprend à associer au stimulus conditionnel (CS) le US. Une fois le conditionnement réalisé, on peut rendre les cellules du LC habitué de nouveau sensibles en changeant les contingences entre le SI et le CS. Ces résultats obtenus chez le rat et d'autres résultats obtenus chez le singe (Aston-Jones et al., 1997) suggèrent que l'activation du LC n'est pas spécifiquement déterminée par une information liée aux stimulus, ni à leurs associations mais plutôt par *le changement de signification* du CS pour l'animal (Sara et al., 1995) puis que à chaque fois que la contingence des stimuli est modifiée, le *même* stimulus engendre une activation des cellules du LC.

#### *Action de NA libéré par le LC :*

L'effet de NA sur l'activité unitaire des neurones cibles a été étudié intensément. Premièrement, il a été montré que l'effet de l'application de NA ou par la stimulation du LC inhibe l'activité des cellules post synaptiques au niveau des structures cibles comme l'hippocampe (Segal et Bloom, 1974a, b), le cortex cérébral (Olpe et al., 1980), le cervelet (Hoofer et al., 1971), le thalamus (Phillips et al., 1967).

Par la suite, il a été suggéré par certains auteurs que la NA aurait un effet inhibiteur différentiel sur les neurones post synaptiques en fonction de leur type d'activité. La NA réduisant plus les activités spontanées que les activités évoquées (dans certains cas les activités évoquées sont amplifiées) et ceci dans le cervelet (Moises et al., 1983) le cortex auditif chez le singe (Foote et al., 1975 ; Edeline & Sara, 1993), le cortex visuel chez le chat (Kasamatsu & Heggelund, 1982), le cortex somatosensoriel chez le rat (Waterhouse et al., 1980), le cortex préfrontal chez le rat (Mantz et al., 1988). Il a donc été suggéré que la NA augmenterait *le rapport signal / bruit* des activités neuronales. Ces effets de NA peuvent se traduire de deux façons différentes : soit par une meilleur ajustement (*tuning*) des réponses neuronales aux caractéristiques du stimulus soit par une effet permissif (*gating*) de la NA, correspondant à un abaissement des seuils de stimulation évoquant des réponses. Par exemple, dans le cortex visuel (Kasamatsu & Heggelund, 1982) la sélectivité des neurones pour

direction et l'orientation peut être augmentée (*tuning*) à la présence de NA. De même que dans le cortex auditif, la sélectivité pour les fréquences tonales est augmentée en présence de NA (Foote et al., 1975 ; Edeline & Sara, 1993). Aussi, il a été noté que dans le thalamus géniculé latéral la présence de NA facilite l'excitation des neurones (*gating*), diminuant leur seuil d'excitabilité (Rogawski & Aghajanian, 1980) ; dans l'hippocampe, la NA augmente l'amplitude des réponses évoqués au niveau du gyrus denté chez le rat vigile (Sara & Bergis, 1991). Une étude récente (Plewnia et al., 2001), réalisée chez l'homme a montré que l'augmentation de la concentration de NA dans le cerveau antérieur provoquée artificiellement par une drogue augmente l'excitabilité des cellules dans le cortex moteur, augmentation mesurée par l'efficacité de stimulation transcranienne à engendrer des mouvements musculaire chez les hommes.

D'autres part, des études tant *in vitro* qu'*in vivo* ont suggéré que la NA participerait à des processus de plasticité synaptique en jouant un rôle permissif, c'est-à-dire que la NA est un des facteurs déterminants la réalisation des phénomènes de plasticité à long terme (Stanton & Sarvey, 1985). *In vitro*, il a été montré que la présence de forte concentration de NA dans des tranches d'hippocampe permettrait l'établissement d'une potentialisation à long terme (LTP) même en absence d'une stimulation de haute fréquence normalement utilisé dans les protocoles pour engendrer un LTP (Harley et al., 1982). Une étude récente (Izumi & Zorumski, 1999) a confirmé le rôle permissif de NA dans la mise en place de LTP *in vitro*. Dans ces expériences, l'établissement de LTP sur des tranches d'hippocampe de rat adulte contenant moins de NA que des rats jeunes, nécessitait des stimulations plus intenses et plus répétitives que les stimulations effectuées sur des tranches issues des animaux jeunes. La même étude a montré que l'addition de NA sur ces tranches adultes rétablissait la capacité de l'induction de LTP par des intensités de stimulus comparable à celle qui sont suffisantes sur les tissus jeunes.

A l'heure actuelle, le LTP forme une cadre théorique pour aborder le sujet de l'apprentissage bien que le rapport entre le LTP et l'apprentissage ne soit pas encore claire et soit un point à débattre. Pour cette raison, il est important de souligner les effets de NA *in vivo*. Ainsi une étude faite sur le système olfactif du lapin a suggéré l'implication de NA dans l'apprentissage au sens propre (Gray et al., 1986). Les auteurs ont mesuré les changements de l'activité électrique du bulbe olfactif à la présentation d'odeurs renforcées tout en injectant du propranolol (une antagoniste des récepteurs noradrénergiques). L'association d'un

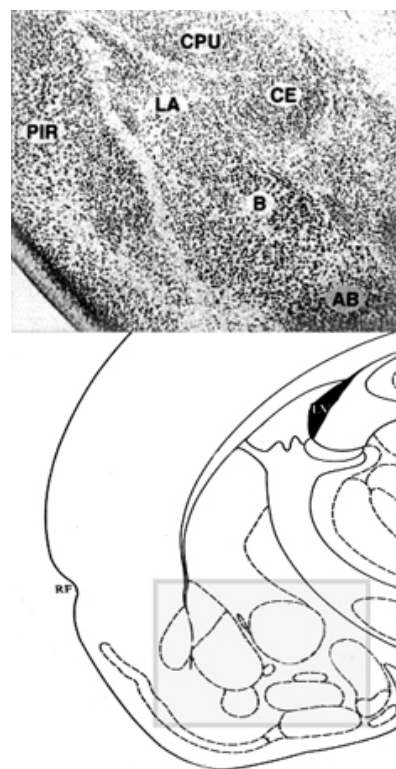
renforcement à l'odeur a créé un changement passager dans le pattern d'activité électrique induit par l'odeur par rapport aux conditions où l'odeur était inhalée seule. L'injection de propranolol a abolit ce changement passager de pattern et l'apprentissage tandis que l'injection de NA a potentialisé ce changement de pattern d'activité électrique suite à l'apprentissage.

En résumé, on peut dire que la NA et par conséquent le LC, son unique source pour le cerveau antérieur, participent à des phénomènes caractérisant l'apprentissage, à savoir attention et mémorisation. A cause de ces multiples implications de NA, l'identification des mécanismes et les différentes régions de cerveau régulant l'activité du LC, est un enjeu important.

## II.b Le Complexe Amygdalien

### *Anatomie fonctionnelle de l'amygdale*

Ce qu'on appelle l'amygdale consiste en un assemblage d'une dizaine de noyaux se trouvant dans les parties inférieures du lobe temporal. L'amygdale est un assemblage arbitraire de noyau car les éléments qui le composent sont peu liés sur les plans structurels et fonctionnels (Swanson & Petrovich, 1998). Une étude basée sur des informations immunohistochimiques, embryologiques et histologiques a mis en évidence que le complexe amygdalien était une assemblage de plusieurs noyaux dont les origines sont corticales, claustrales et striatales; ces noyaux appartenant à des systèmes fonctionnelles tels le système olfactif principal, olfactif accessoire, autonome et cortico-frontotemporal. En se basant sur ces informations, il n'est donc pas erroné de dire que l'amygdale en tant qu'unité fonctionnelle n'existe pas (Swanson & Petrovich, 1998).



**Figure 2.** Au dessous de la figure un schéma d'une coupe frontale de la partie droite du cerveau de rat est présenté schématiquement. La coupe est réalisée à 2,3mm postérieur par rapport à bregma. (RF : Fissure rhinale, LV : Ventricule latérale.) La région qui correspond au carré gris est présentée au dessus. (CPU : Putamen caudé ; Pir : Cortex piriforme ; CE : Noyau centrale de l'amygdale ; LA : Noyau latérale de l'amygdale ; B : Noyau basal ; AB : Noyau basal accessoire. (Photo tirée de Maren, (1999) ; schéma tiré de Paxinos & Watson (1986))

Dans le contexte de notre propos le noyau central de l'amygdale (CEA) et le *complexe basolatéral* qui comprend le noyau latéral (LA) et le noyau basolatéral (BLA) seront présentés.

Le CEA est une structure striatale et comme toutes les projections striatales, il forme des synapses gabaergiques avec les différentes structures du système autonome du tronc cérébral (Swanson & Petrovich, 1998). Par exemple (Davis et al., 1994 ; Maren, 1999), le CEA se projette sur le noyau dorsal du nerf vague, noyau du tractus solitaire, le noyau parabrachial, les régions latérales de la substance grise péri-aqueducale et une région de noyau réticulaire du pont. Ces informations structurales et fonctionnelles suggèrent que le CEA est une région du striatum, spécialisée dans la modulation des structures impliquées dans la manifestation des comportements et des réponses autonomes (comme le changement de fréquence cardiaque, pression artérielle...) jouant ainsi un rôle complémentaire avec les parties dorsales de striatum qui sont spécialisé dans modulation des structures impliquées dans la manifestation des comportements somatomoteurs.

L'origine structurelle du complexe basolatéral de l'amygdale est différente de celle du CEA: Elle est claustrale. Le claustrum est la partie la plus profonde du cortex insulaire et se situe entre la capsule externe et la capsule extrême (Swanson & Petrovich, 1998). Les cellules claustrales utilisent le même neurotransmetteur que les cellules corticales : le glutamate. Le BLA et le LA possèdent chacun des connexions bidirectionnelles avec les systèmes olfactif, préfrontal et insulaire; pour sa part le LA présente de telles connexions avec les régions temporales et hippocampales ; le BLA en possède avec les lobes pariétal et frontal (Swanson & Petrovich, 1998). Il est à noter aussi que ces deux noyaux se projettent sur le CEA, discuté précédemment (Ledoux; 2000). Le complexe basolatéral reçoit aussi des informations sensorielles de toutes les modalités via les afférences thalamiques et corticales soit directement par le thalamus soit par les régions corticales correspondantes (Maren, 1999). Il existe aussi des connexions bien connues entre le complexe basolatéral et l'hippocampe (Kim & Fanselow, 1992).

Comme il a été précisé dans le chapitre précédent, les études de Van Bockstaele (1996) ont montré que le CEA se projette vers les aires péricoeruleuses où il établit des synapses avec les dendrites des cellules du LC. Les projections des cellules du LC vers le BLA sont aussi décrites dans la littérature (Jones & Fanselow, 1992).

Pour résumer, ce qu'on appelle l'amygdale fait référence plutôt à un ensemble hétérogène de noyaux qu'à un complexe structurellement et fonctionnellement homogène. Tandis que le CEA est striatal et impliqué fonctionnellement dans les processus autonome, le complexe basolatéral est d'origine claustrale et fait des connections bidirectionnelle avec les différents régions corticales et thalamiques sensorielles ou non. Les connections sont bien défini : Le complexe basolatérale se projette sur le CEA qui à son tour se projette vers le LC et les projections massives du LC vers le BLA sont connues.

### *Les processus cognitifs et l'amygdale*

Ce sont les expériences utilisant une approche lésionnelle, de Kluver et Bucy (1939) qui ont pour la première fois montrée l'importance des régions inférieures du lobe temporal dans les processus émotionnels. Les singes qui ont reçu de telles lésions, ont présenté des changements dans leurs comportements innés. On peut résumer ces effets comme une abolition ou modification de l'intentionnalité des singes vis à vis les objets qui les entouraient. Par exemple, des objets qui induisaient des comportements de colère ou de consommation avant la lésion, ont échoué à induire ces comportements après ces lésions. Par la suite, il a été montré, que les mêmes déficits s'obtiennent tout simplement par des lésions qui comprennent la totalité des noyaux amygdaliens. Les lésions importantes de l'amygdale abolissaient les réactions conditionnées et innées des animaux à des stimuli stressants (Davis et al., 1994). Un exemple frappant de l'abolition des réponses innées est le fait que les patients ayant des lésions bilatérales de l'amygdale présentent des déficits dans la reconnaissance des valeurs émotionnelles des visages (Adolphs et al., 1994) et dans la reconnaissance auditive de la peur (Scott et al., 1997) (on peut considérer les visages et les sons comme un stimulus inconditionnel).

En plus de cette implication dans la reconnaissance des US, l'abolition des conditionnements par les lésions de l'amygdale suggère l'implication de l'amygdale dans des processus d'apprentissages associatifs. L'étude de l'amygdale dans les processus d'apprentissage a été entreprise intensément par des expériences utilisant des protocoles de conditionnement classique et instrumental. Ces expériences sont devenues un modèle pour l'étude de l'amygdale. Tandis que le conditionnement classique permet à un stimulus initialement neutre (stimulus conditionnel) d'acquérir une valeur prédictive par la présentation associé avec un renforcement positive ou négative (stimulus inconditionnel), le

conditionnement instrumental permet à un stimulus initialement neutre d'acquérir une capacité dans le guidage de l'action de l'animal.

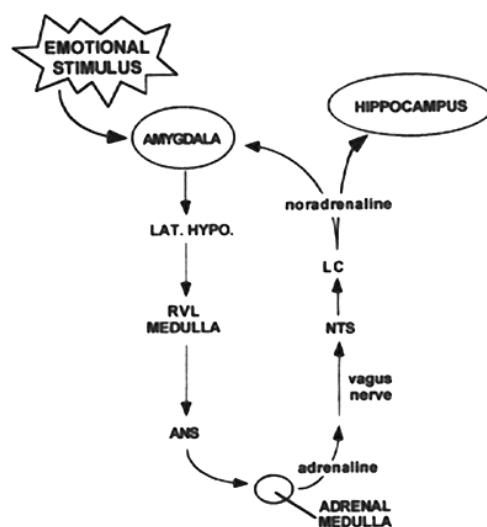
Afin de dissocier fonctionnellement les noyaux latéral, basolatéral et central, l'équipe de Ledoux ont soumis des rats à des protocoles de conditionnement classique aversif et instrumental aversif (Amorapanth et al., 2000). Tandis que les lésions du CEA ont aboli la manifestation comportementale de la peur et des réponses autonome comme le changement de fréquences cardiaque et respiratoire pendant les protocoles de conditionnement classique, les lésions du BLA ont interféré avec l'acquisition du conditionnement instrumental. D'autre part, les lésions du LA ont bloqué les deux en même temps. Ce qui conduit Ledoux à suggérer que le LA est le site de plasticité dans l'amygdale pour la formation de la trace mnésique, et que les différentes sorties de l'amygdale (CEA et BLA) médient les différents types de comportement : le CEA, les comportements réactifs, et le BLA pour les comportements actifs nécessaires au conditionnement instrumental. Le fait que le LA est le site de plasticité semble être confirmé par différentes expériences. Par exemple, l'injection dans le LA de bloqueurs des récepteurs NMDA avant les sessions de conditionnement mais pas avant la session de test (Miserendino et al., 1990) bloque l'établissement du conditionnement, suggérant que l'acquisition mais pas l'expression est dépendant des phénomènes de plasticité cellulaire.

Sur ce point, il existe actuellement un débat car les récepteurs NMDA participent aussi à la transmission entre les cellules (*in vivo* : Li et al., 1995 ; *in vitro* : Weisskopf & Ledoux, 1999) et ne sont pas spécifiquement impliqués dans les phénomènes de plasticité. Ainsi, certaines études ont montré que le blocage des récepteurs NMDA inhibe aussi l'expression du conditionnement (Maren et al., 1996b). Mais certains auteurs ont aussi signalé la dissociation des effets de blocage de NMDA sur l'expression et acquisition (Gewirtz et al., 1997). D'autre part, les expériences *in vitro* d'induction de LTP ont montré que l'induction de LTP dans la voie thalamo-amygdalienne est indépendante des récepteurs NMDA (Weisskopf & Ledoux, 1999). En tout cas, il est possible que les récepteurs NMDA soient impliqués dans un réseau local au sein de l'amygdale ou bien dans une autre voie afférente au LA.

Plusieurs autres données expérimentales ont conforté l'idée selon laquelle le LA serait le site de plasticité. Le blocage fonctionnel transitoire du LA par des agonistes de GABA crée des déficits d'acquisition du conditionnement aversif (*fear conditioning*) (Wilensky et

al., 1999). L'établissement de conditionnement et l'induction de LTP dans la voie thalamo-amygdalienne sont de la même façon sensibles aux contingences et contiguités entre les stimuli conditionnels et inconditionnels, et tous les deux présentent les mêmes phases temporelles (Bauer et al., 2001). En plus, les lésions de LA réalisés des semaines après l'acquisition du conditionnement bloquent l'expression du conditionnement pourtant acquis (Maren et al., 1996). Enfin, il existe dans le LA des cellules sur lesquelles convergent des afférences transmettant les informations sur le stimulus conditionnel et inconditionnel (Romansky L.M. et al., 1993). Toutes ces données semblent confirmer l'idée selon laquelle le LA serait le site de plasticité permettant aux stimulus diverses de gagner des valeurs émotionnelles.

A ce stade, il est pertinent de discuter les expériences réalisées par McGaugh et ses collègues. D'après ces expériences, ils ont suggéré que l'amygdale jouerait en plus un rôle dans la modulation des processus mnésiques, plus précisément dans les processus de consolidation. La nécessité de supposer l'existence d'un mécanisme pour la modulation mnésique provient du fait que les expériences émotionnellement fortes sont généralement mieux rappelées (McGaugh, 2002). Les expériences de McGaugh et ses collègues suggèrent que l'adrénaline (hormone sécrétée au moment du stress par les glandes surrénales) aurait un rôle modulateur sur les processus de consolidation mnésiques. L'adrénaline, incapable de traverser la barrière hématoencéphalique, activerait le système noradrénergique central (voir figure 3) qui prendrait le relais pour moduler les processus mnésiques (Williams, 1993 ; Williams, 2000). Cet effet adrénérergique est dépendant de l'amygdale. L'inactivation des récepteurs  $\beta$ -adrénergiques de l'amygdale abolit les effets modulateurs de l'injection d'adrénaline, il abolit aussi les effets de l'injection locale de NA dans l'amygdale après l'entraînement à la tâche (Liang, 1986). Il semble que l'activation noradrénergique des récepteurs  $\alpha_1$ -



**Figure 3.** Modulation des processus mnésiques par l'adrénaline. L'activation de l'amygdale par un stimulus interprété comme émotionnel engendre l'activation des glandes adrénérergiques. La sécrétion de l'adrénaline agit via le NTS sur le système noradrénergique central, le LC. La libération de la noradrénaline dans les structures cibles a pour conséquence d'améliorer les processus de consolidation mnésique dans les structures cibles (Schéma tiré de Ledoux, 1998). (LAT. HYPO. : Hypothalamus latéral ; RVL MEDULLA : Médulla rostrale latérale ventrale ; ANS : Système nerveux autonome ; NTS : Noyau du tractus solitaire)

et  $\beta$ -adrénergiques dans le BLA est nécessaire pour la médiation des effets modulateurs de la noradrénaline dans le BLA (Ferry et al., 1999). Voir figure 3 pour un résumé schématique des résultats obtenus par McGaugh et ses collègues.

Les études faites par l'équipe de Ledoux ont pour la plupart utilisé comme paradigme expérimental le conditionnement classique aversif (*fear conditioning*). Il est aujourd'hui généralement accepté que l'amygdale participe à l'acquisition et l'expression de conditionnement aversif. Mais d'autres études, précisément celles de Gallagher utilisant d'autres protocoles ont permis d'appréhender les implications des noyaux amygdaliens dans d'autres processus cognitifs.

Des protocoles de conditionnement bien adaptés ont permis d'associer le CEA aux processus attentionnels. Ces protocoles engendrent deux types de réponses conditionnelles, une réponse conditionnelle focalisée sur le stimulus inconditionnel (la nourriture par exemple), qui consiste à un comportement d'approche, et une autre réponse focalisée sur le CS lui-même (dans ces expériences le CS dure environ 10 secondes). Ces derniers ont été nommés *réponses d'orientation conditionnées* (ORC) (Gallagher, 1990) ou *alpha conditioning* (Hull, 1934). Ceux-ci consistent en une amélioration des réponses d'orientation faites sur le CS, dépendante du conditionnement avant que le conditionnement véritable s'établisse. Par exemple les rats se mettent debout et regardent attentivement le CS, ce comportement s'améliorant au fur et à mesure que le rat découvre l'association de ce CS et le US. Il a été montré que les lésions du CEA empêchent l'établissement des ORC pour des stimuli visuels et auditifs sans empêcher la mise en place du conditionnement et sans interférer ni avec les réponses d'orientation normale (réponse d'orientation inconditionnelle, non apprise) ni avec les capacités sensorimotrices, motivationnelles ou d'apprentissage. Cela est vrai aussi pour les composantes autonomes des réponses conditionnelles, car bien qu'elles soient abolies par les lésions du CEA, les réponses autonomes à des nouveaux stimuli sont entièrement épargnées. (Kapp, 1979).

Une meilleure compréhension de ce déficit très spécifique du à la lésion du CEA a été obtenue par des études recourant à un protocole judicieusement élaboré. L'idée directrice était basée sur les principes de la théorie de l'apprentissage selon laquelle l'apprentissage associatif serait contrôlé par le guidage des processus attentionnels en fonction de la valeur prédictive des différents stimuli. L'attention serait orientée vers un stimulus quand sa signifiante est incertaine. Ce type d'attention orientée vers un stimulus diminuerait



progressivement quand le stimulus ne serait plus, par l'apprentissage de l'animal, en mesure d'apporter des nouvelles informations sur les événements ultérieurs (quand il ne serait plus prédictif des événements ultérieurs biologiquement significatifs) ou au fur à mesure que l'organisme apprendrait qu'un événement en prédit un autre d'une façon fiable. De la même façon, quand un événement se réalise d'une manière imprédictible ou quand l'occurrence des enchaînements d'événements déjà appris n'est plus respectés, l'attention orientée vers ces stimuli se voit augmentée (Mackintosh, 1975 ; Pearce & Hall, 1980). De ce point de vue, l'absence d'apprentissage des ORC pourrait être le résultat du déficit d'augmentation attentionnelle vers ces stimuli, dont la relation associative avec d'autres serait détectée.

L'implication du CEA dans ces processus d'augmentation attentionnelle aux événements biologiquement pertinents a été validée par des protocoles expérimentaux (Holland & Gallagher, 1993). Initialement, les travaux de Wilson et al (1992) ont montré que les protocoles d'apprentissage dans lesquels le CS et US étaient présentés avec une relation causale inférieure à 100% (*inconsistent association*) augmentaient l'orientation de l'attention au CS, par rapport aux conditions dans lesquelles ils étaient présentés avec une relation causale égale à 100%.

Pour identifier l'implication du CEA dans le phénomène d'augmentation d'attention, des rats ont été lésés par injection d'une neurotoxine dans le CEA (Holland & Gallagher, 1993). Le groupe témoin a reçu une pseudo lésion. Tous ont subi un traitement en deux phases. Dans la première phase de l'expérience, tous les rats ont reçu le même traitement; ils ont été présentés à deux suites de stimuli avec un nombre de présentation égale pour chaque suite :

(1) Lumière → Son → Nourriture

(2) Lumière → Son

Dans la deuxième phase, les rats étaient divisés en deux sous-groupes pour le groupe lésé et le groupe témoin: les premiers sous-groupes recevaient les mêmes suites de stimuli que dans la phase précédente, c'est-à-dire (1) et (2) et les deuxièmes sous-groupes, tout en recevant la suite (1), recevaient à la place de la suite (2) une présentation unique de la lumière. A l'issue de ces deux phases de l'expérience, la capacité d'être conditionné par la lumière a été testée.

Selon la théorie, pendant la première phase, l'attention orientée à la lumière devrait diminuer au fur et à mesure que la valeur prédictive du son s'établit. Mais pour les

deuxièmes sous-groupes, cette valeur devrait être perturbée pendant la deuxième phase de l'expérience par la présentation de la lumière d'une manière non associée avec le son. Ainsi l'attention portée à ce son devrait être plus haute pour les deuxièmes sous-groupes et ainsi le conditionnement devrait s'établir plus rapidement pour ces groupes.

Cela a été confirmé par le fait que les rats témoins du deuxième sous-groupe ont pu être plus facilement conditionnés par la lumière que les rats témoins du premier sous-groupe. Par contre les rats lésés n'ont pas manifesté cette augmentation de la capacité d'être conditionné par la lumière. *Donc la diminution de la valeur prédictive de la lumière n'a pas engendré une augmentation de l'attention chez ces rats ayant une lésion du CEA.* Ces données expérimentales ont conduit l'équipe de Gallagher à considérer que le CEA serait impliqué, avec les mots de Gallagher « dans le traitement amélioré de la lumière » et par conséquent dans le fait que l'apprentissage ne se réalise pas aussi facilement que chez les rats témoins (Gallagher, 1999).

Ces résultats suggérant l'implication du CEA dans les processus attentionnels sont aussi en concordance avec une autre donnée expérimentale (Kapp, 1994) : la stimulation du CEA provoque une désynchronisation de l'EEG cortical, phénomène associé généralement à des niveaux de vigilance élevés.

Ces résultats montrent que, plutôt que d'être une simple sortie des réponses comportementales réactives comme le suggérait Ledoux, le CEA est aussi impliqué dans des processus attentionnels ; plus précisément, le CEA participe aussi à des processus de modulation attentionnelle au cours d'un apprentissage associatif. Par contre, le point commun existant entre ces effets du CEA sur le système autonome réactif, comme cela a été proposé par Ledoux, et son implication dans l'attention, comme cela a été proposé par Gallagher nécessite plus d'études.

## **II.c Contribution au travail effectué**

On a vu que l'action du LC, seule source de NA pour le cerveau antérieur, se traduit de multiples façons sur les activités des neurones. Premièrement, il peut moduler l'activité des neurones dans plusieurs régions cérébrales. Ces effets sont considérés comme fortement liés aux mécanismes biologiques de l'attention. Deuxièmement, l'effet de NA se traduit par

un rôle permissif dans les processus de mémorisation qui implique un remodelage des réseaux neuronaux. Et troisièmement, on a vu que l'application de NA dans le BLA peut moduler les processus de consolidation mnésique. L'ensemble des effets de NA justifient l'importance des études consacrées à la recherche de régions du cerveau régulant l'activité du LC. Dans cette voie, les études anatomiques de Van Bockstaele suggèrent un rôle potentiel du CEA dans le contrôle de l'activité du LC. Bien que ces études ont indiqué un rôle de neurotransmetteur au CRF dans la médiation du contrôle du LC par le CEA, jusqu'à maintenant aucune étude n'a été réalisée afin d'éclaircir *la relation fonctionnelle* entre ces deux noyaux. Or c'est dans cette perspective que nous avons travaillé. Premièrement, on a caractérisé les réponses du LC à la stimulation du CEA et des structures avoisinantes, chez le rat anesthésié.

Après avoir caractérisé l'action de la stimulation du CEA sur le LC, on a appliqué un choc électrique sur la patte, pendant qu'on enregistrait simultanément, l'activité électrique dans les trois structures que sont le BLA, le CEA et le LC chez le rat anesthésié. Le choc électrique appliqué sur la patte est le stimulus inconditionnel très souvent utilisé dans les protocoles de conditionnement aversif. Ainsi en appliquant ce stimulus inconditionnel, on a voulu enregistrer les interactions neuronales entre ces trois noyaux durant l'application d'un stimulus inconditionnel d'une tâche de conditionnement. En enregistrant les activités neuronales entre ces trois structures dont leurs interconnexions sont bien connues sur le plan anatomique, on a tenté d'éclaircir leurs interactions électrophysiologiques. La raison qui nous a motivé dans cette démarche c'est que le CEA, le BLA et le LC forment un réseau de noyaux participants à des processus attentionnels et mnésiques.

### **III. Matériels et Méthodes**

#### *Préparation des animaux*

Dix-sept rats mâles de poids 240 à 450 grammes, de souche Sprague-Dawley ont été utilisés. Avant les expériences, tous les animaux ont été gardés par deux dans des cages métalliques pendant au moins 1 semaine dans une animalerie dont la température et la lumière étaient contrôlées. Ils avaient accès libre à la nourriture et l'eau et ils étaient manipulés régulièrement.

Les animaux ont été anesthésiés par injection intrapéritoniale d'uréthane (1.5g/kg). L'établissement de l'anesthésie a été contrôlé par l'abolition des réflexes de retraitement de la patte arrière au pincement et de clignement de la paupière. Si nécessaire, c'est à dire si l'animal a manifesté des signes de réveil, comme par exemple une augmentation des mouvements des vibrisses, des petites doses d'uréthane ont été administrées.

Les animaux ont été placés dans un appareil de fixation stéréotaxique (David Kopf), la tête étant maintenue fixée par deux barres d'oreille et une pièce de gueule. La tête était inclinée vers le bas (pièce de gueule à -7mm, 14°) pour faciliter l'accès au LC. Cela nous a permis, pendant la chirurgie et la pénétration des électrodes, d'éviter le sinus veineux.

La partie supérieure du crâne a été mise à nu. Après l'exposition du crâne et l'arrêt complet des saignements, deux fenêtres d'ouverture de quelque mm<sup>2</sup> de surface ont été réalisées par une perceuse autour des coordonnées AP -2,3mm de bregma, ML 4,5mm de bregma pour l'amygdale et AP -1.15 de lambda et ML -4 de lambda pour le LC. La dure-mère a été enlevée. Pendant des périodes d'attente, l'application locale d'un coton mouillé avec du NaCl (9/1000) nous a permis d'éviter le séchage du tissu.

Pendant toutes les expériences, la température interne des animaux a été mesurée et maintenue constante par un coussin chauffant. Cela avait pour but de garder le taux de décharge des cellules du LC constant car ce taux est thermo dépendant.

#### *Enregistrement de l'activité électrique dans le LC*

L'activité neuronale a été recueillie en dérivation extracellulaire par l'intermédiaire des microélectrodes de tungstène. Les impédances étaient comprises entre 0.9-5 MΩ. L'électrode était attachée à une sonde Grass P5, l'activité ensuite amplifiée 10 000 fois, filtrée (BP : 400-3000Hz), observée sur l'oscilloscope, contrôlée acoustiquement par un haut-parleur et numérisée avec une fréquence de 33kHz par un convertisseur numérique, Cambridge Electronic Design (CED1401).

L'électrode a été placée sur le cervelet s par l'intermédiaire d'un micromanipulateur. Ensuite l'électrode a été descendue de 5 mm à travers le cervelet. Les cellules rencontrées dans le cervelet répondant à la stimulation tactile du dos de l'animal, ont été utilisées comme indice pour être sûr que pendant la descente, l'électrode était encore dans le cervelet. Systématiquement, une période de silence d'activité neuronale consistant au passage par le ventricule a été recherchée vers 5 mm de profondeur. Dans cette partie du cerveau, le

ventricule étant plus ventral dans les régions médianes que dans les régions latérales, la distance nécessaire pour atteindre cette période de silence a été aussi utilisée comme un indice afin de vérifier la médio latéralité des électrodes. Ensuite l'électrode a été descendue très soigneusement pour détecter des cellules du LC. On a cherché attentivement des cellules qui répondaient à des pincements de la patte arrière par une activation suivie d'une inhibition, caractéristiques de la réponse des cellules du LC. En plus de ce contrôle on s'est assuré de l'identité des neurones en vérifiant que ceux-ci présentaient une activité spontanée d'environ 1.2 Hz et une durée de potentiel d'action long, caractéristique des neurones du LC .

Parfois, les neurones trouvés présentaient une activité spécifique des cellules du noyau trigéminal moteur, latéral et antérieur par rapport à LC, cellules caractérisées par leur réponse phasique à l'étirement de la mâchoire. Dans ces cas, on refaisait une deuxième pénétration en déplaçant l'électrode en position plus médiane ou plus postérieure. Dans tous les cas, cette deuxième pénétration était réussie. Une fois que les cellules du LC étaient détectées l'emplacement des électrodes n'était pas modifié jusqu'à la fin de l'expérience. Dans certains cas rares, où l'activité a été perdue, il a fallu effectuer de petits déplacements pour détecter à nouveau une activité.

L'activité unitaire a été extraite par un logiciel (Spike2, version 3.21) qui trie les activités électriques recueillies en fonction de la forme des potentiels d'action. Ainsi le logiciel forme des patrons correspondant chacun à des cellules différentes. Après cette classification qui se réalise au cours de l'acquisition, les données ont été traitées off line pour contrôler la validité du processus automatique. Pour chaque patron, on s'est assuré qu'il n'existait pas de potentiel d'action séparé l'un de l'autre avec un intervalle plus petit que de 2 msec. Seules les activités cellulaires dont les intervalles entre potentiels d'action étaient plus grands que 2 msec ont été considérées comme activités unitaires (SU). Les autres patrons et les potentiels d'action non classés en patron ont été considérés comme activité multi unit (MU).

L'artéfact de la stimulation a été éliminé facilement par nettoyage grâce à un programme éliminant des activités à partir d'un certain seuil d'amplitude.

### *Enregistrement de l'activité électrique et stimulation de l'amygdale*

Les électrodes pour toutes les expériences ont été maintenues par un porteur indépendant, incliné de 14 degrés afin d'avoir une pénétration perpendiculaire par rapport à la surface du crâne.

Pour les expériences de stimulation de l'amygdale, on a utilisé 2 microélectrodes collées l'une à l'autre avec une distance maximale 200µm. Les électrodes utilisées étaient des anciennes électrodes d'enregistrements en tungstène dont leur impédance était trop peu importante (0.2-0.4 MΩ) pour obtenir un enregistrement d'activité unitaire, mais suffisante pour contrôler l'activité multiunitaire pendant l'implantation d'électrode. Après un contrôle soigneux de la pointe et de l'isolation de l'électrode sous un microscope, deux ont été collées l'une à côté de l'autre avec une distance maximum de 200 µm. Les électrodes de stimulation ainsi préparées ont été pénétrées dans le cerveau de telle façon que la ligne séparant les 2 électrodes soit parallèle à l'axe médio latéral de l'animal. On a préféré la stimulation bipolaire pour être sûr de la localisation spécifique de la stimulation étant donné la présence de multiples noyaux amygdaliens avoisinants.

Pour des expériences d'enregistrement, 2 microélectrodes (1-5 MΩ) ont été collées avec une distance de 1 µm afin d'enregistrer simultanément dans le BLA et le CEA. L'électrode destinée au BLA étant placée en position plus ventrale, à 100 µm de l'électrode destinée au CEA, en raison de la localisation légèrement plus ventrale du BLA par rapport au CEA. La profondeur des électrodes a été réglée par l'intermédiaire du micromanipulateur. Après avoir mis en contact de façon soigneuse l'électrode destinée à CEA avec la surface du cerveau, les électrodes ont été descendues de 7 mm. L'activité de l'électrode destinée au CEA a été écoutée car durant la descente l'électrode traverse des fibres de la capsule interne. L'activité de ces fibres étant très rapide, cela nous permettait de nous repérer dans le plan médio latérale. Une fois les électrodes implantées dans les noyaux cibles, on a réalisé des petits déplacements pour trouver une activité unitaire stable. Pour toute la procédure l'atlas de Paxinos & Watson (1986) a été pris comme référence.

L'activité électrique a été recueillie de la même manière que celle du LC. Sauf pour les séries d'enregistrements simultanés des trois noyaux où le taux de numérisation était de 22 kHz.

### *Protocole de stimulation*

La stimulation de l'amygdale et de la patte a été réalisée d'une manière automatisée grâce au logiciel d'acquisition.

Pour l'amygdale, la stimulation consistait à des pulses ou des trains de pulses de 200Hz. Les intensités de stimulation étaient de 500, 600 et 800  $\mu$ A. Chaque série consiste à 40-60 stimulations espacées de 20 secondes d'intervalles.

Pour la stimulation de la patte, on a attaché à la patte arrière contra latérale deux fils en argent reliés à la boîte d'isolation. Les deux points de contacts des deux fils avec la patte était espacé d'au moins 3 cm pour que le courant traverse un maximum de tissu. Dans certaines expériences, le courant électrique a été appliqué par l'intermédiaire de deux très fines extrémités de seringues qu'on a implantées dans la patte et reliés par une câble à la boîte d'isolement. On a appliqué un choc électrique juste suffisant pour obtenir une contraction des pattes. Une durée de 20 msec et d'intensité de 50 et 80 A a été appliquée. Cela nous a permis d'obtenir des réponses caractéristiques du LC au pincement des pattes sans qu'une habitude se mette en place.

### *Traitement Statistique*

Les latences des réponses ont été calculé de la façon suivante : Sur les post stimulus time histogram (PSTH) réalisés (bins=2), on a présenté l'activité neuronale de -500 msec à 500 msec par rapport au moment de l'application de la stimulation. L'activité de base a été déterminée en prenant la moyenne de l'activité neuronale sur toutes les bins de -500 msec à 0 msec pré stimulus. On a calculé l'écart type (SD) de ces valeurs. Une réponse à la stimulation est définie par la présence d'au moins 2 bins successifs ayant une valeur d'amplitude supérieur à la moyenne plus deux SD.

## **IV. Les Résultats**

### **IV.a Stimulation du CEA**

#### *Histologie*

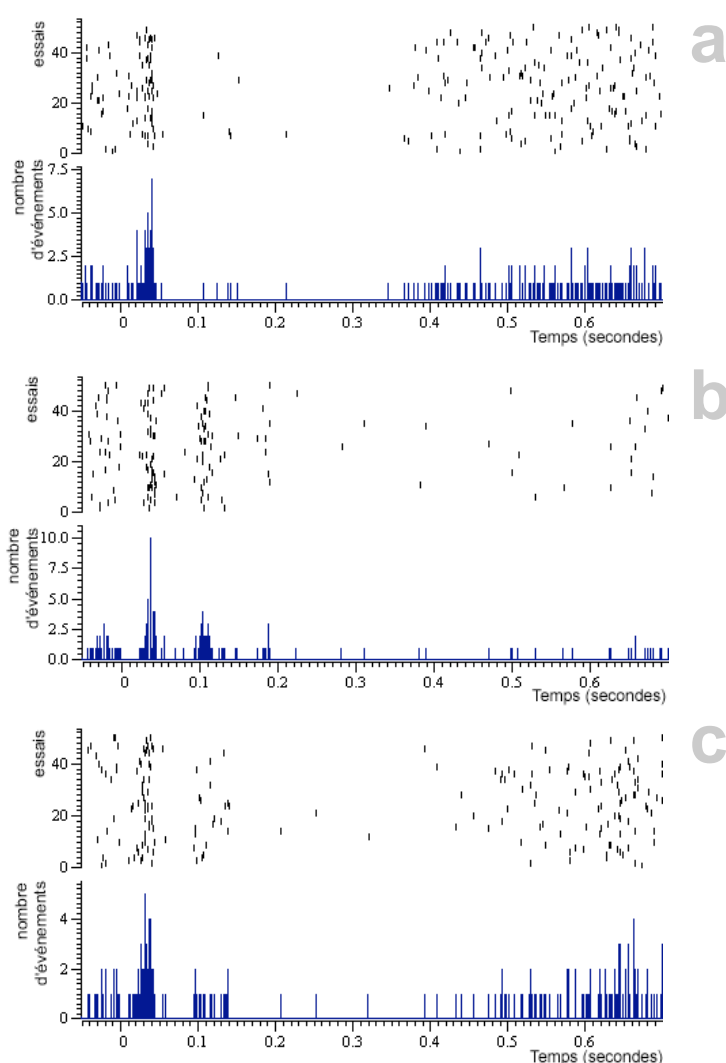
Sur 12 rats, 7 avaient les électrodes de stimulation dans le CEA. Trois étaient situées dans la capsule interne et une dans le noyau médian de l'amygdale (ME). Les expériences faites sur les 7 animaux qui avaient les électrodes d'enregistrement au bon endroit nous ont

permis d'isoler 19 activités SU et 4 activités MU dans le LC. 7 de ces unités ont été obtenues durant les expériences de stimulation du BLA et le reste durant la stimulation du CEA.

L'injection de clonidine a conduit à une diminution du taux d'activité spontanée des cellules du LC. A chaque injection, toutes les cellules sans exception ont manifesté une inhibition.

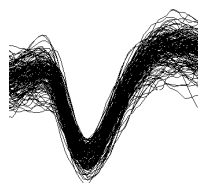
### *Electrophysiologie*

Chacune des 12 activités unitaires enregistrées dans le LC ont répondu à la stimulation du CEA. Les cellules du LC ont répondu de la façon suivante : les cellules ont manifesté une augmentation de leur fréquence de décharge suivie d'une inhibition (Figure 4).



**Figure 4.** Les représentations en PSTH avec rasters de l'activation d'une même cellule du LC à des amplitudes de stimulations croissantes du CEA. En haut de chaque figure sont représentés les rasters. Chaque ligne est un essai de stimulation, la stimulation étant appliquée à 0 msec, chaque point consiste en un potentiel d'action (spike) de la cellule enregistrée. En bas, sont représentés les PSTH (post stimulus time histogram). Dans les PSTH, la hauteur de chaque colonne indique le nombre des potentiels d'action qui se produisent dans une fenêtre de 1 msec pour tous les essais (bins=1msec). 4a. L'activation d'une cellule du LC est obtenue par la stimulation du CEA en pulse de 400µS de durée et 500µA d'intensité (P400-500). En 4b, est présentée la réponse de la cellule aux stimulations de type P400-800 et en 4c aux stimulations de type T200-800 (T : Train).

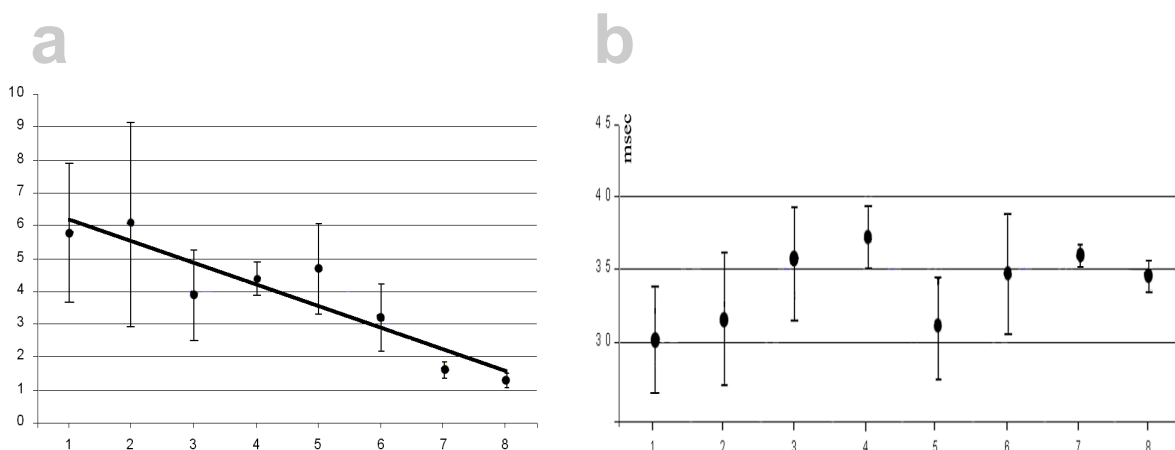
L'amplitude de la réponse et la période d'inhibition augmentent avec l'intensité des stimulations, ce qui suggère que l'inhibition est une auto inhibition et est par conséquent contrôlée par la quantité de NA relarguée dans le LC. L'augmentation de l'amplitude de stimulation induit l'apparition de pics secondaires dans les réponses de la cellule. La forme des PA est présentée ci-dessous.



La latence de l'activation était de  $30 \pm 4$  msec. La période d'inhibition, durant laquelle l'activité du LC était moins importante que la période précédant la stimulation s'étendait de 300 msec à 700 msec après la stimulation.



Les stimulations par train ont donné lieu à des réponses plus importantes que les stimulations en pulse (mesuré par le maximum d'amplitude de décharge atteint par les cellules durant la réponse) (Figure 5A). On a aussi mesuré si les différents types de stimulations jouaient sur la latence des réponses. Les différentes stimulations n'ont pas eu d'effet différent sur les latences des réponses du LC.



**Figure 5.** 5a. Valeurs des points représentent le facteur multiplicatif de l'activité induit par la stimulation de CEA (activité moyenne pendant 10 msec pendant la réponse) par rapport à l'activité de base. Les significations des nombres en abscisse sont ainsi : 1 : 800  $\mu$ A 400  $\mu$ sec en train; 2 : 800  $\mu$ A 200  $\mu$ sec en train ; 3 : 600  $\mu$ A 200  $\mu$ sec en train ; 4 : 500  $\mu$ A 200  $\mu$ sec en train ; 5 : 800  $\mu$ A 400  $\mu$ sec en pulse ; 6 : 500  $\mu$ A 400  $\mu$ sec en pulse ; 7 : 800  $\mu$ A 200  $\mu$ sec en pulse ; 8 : 600  $\mu$ A 200  $\mu$ sec en pulse. Les stimuli de plus faible énergie engendrent très peu d'activation et l'activation de LC augmente proportionnellement avec l'énergie de la stimulation (celle-ci étant obtenue par la multiplication de la durée du choc par son intensité) 5b. Les latences obtenues par les stimulations de CEA à des intensités et durée différentes. Les différences ne sont pas significatives.

Pendant deux expériences, on a pu observer des activations antidromiques à la stimulation du CEA. Ces activations avaient des latences remarquablement constante de l'ordre de 24 msec, et la cellule répondait à chaque stimulation. Pour s'assurer qu'il ne s'agit pas d'une contamination par l'artéfact de stimulation, on a contrôlé spike par spike toutes les activations antidromiques. Aucun d'eux n'avait une forme d'artéfact et tous ressemblaient aux formes des spikes des cellules du LC. L'activation antidromique indique que la stimulation du CEA dans cette expérience active soit les projections du LC dans le CEA soit les fibres de projections issues du LC qui passent par cette région.

## IVb. Stimulation du BLA

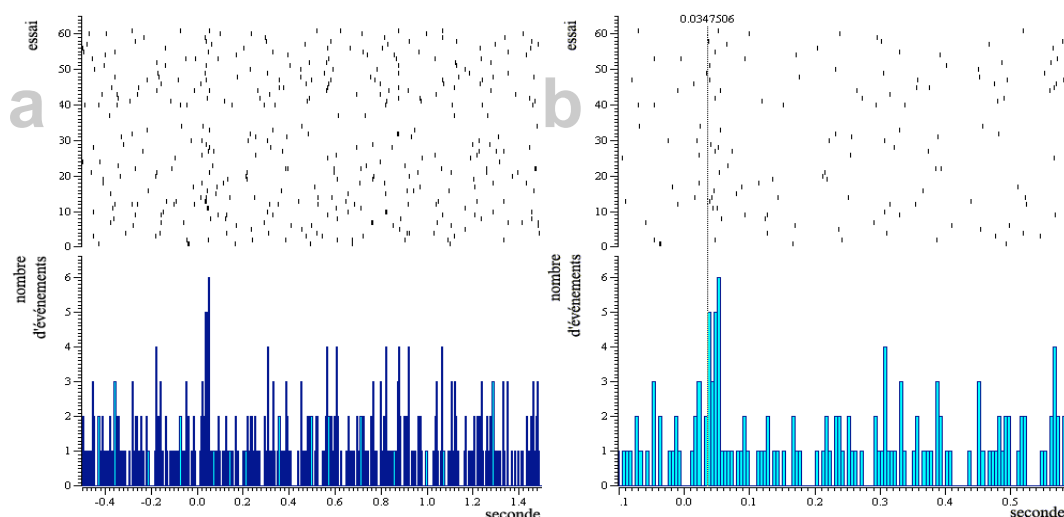
### *Histologie*

Cf. la partie précédente.

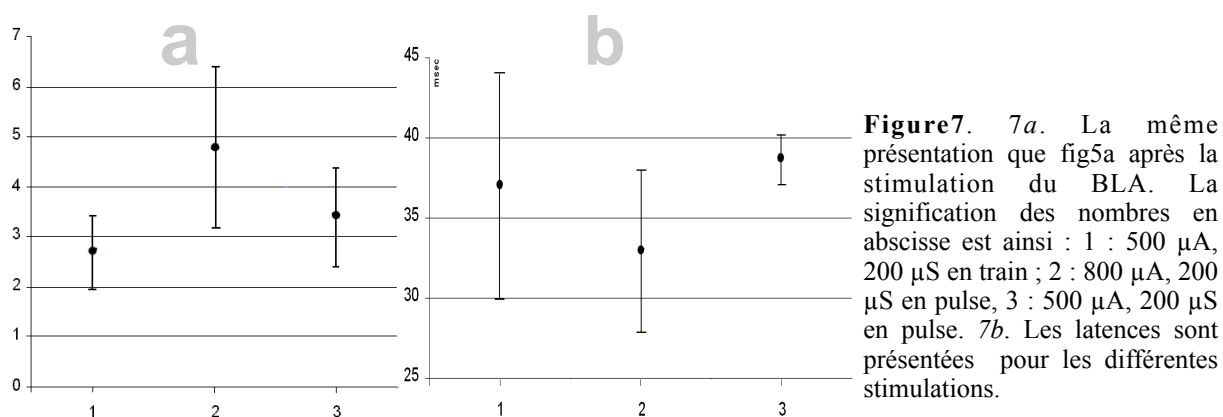
### *Electrophysiologie*

La stimulation du BLA a été entreprise. Les mêmes durées et intensités de stimulation ont été appliquées. Une réponse représentative est présentée sur le figure 6. Les latences et les amplitudes des réponses obtenues à la stimulation du BLA étaient différentes de celles obtenues avec la stimulation du CEA. Les latences étaient significativement plus tardives que celles de la stimulation du CEA et les activations étaient significativement moins amples que celles obtenues avec la stimulation du CEA. Mais paradoxalement, le seuil de réponse du LC à la stimulation du BLA était généralement plus bas que celui du CEA, la plupart répondant à des stimulations de 500  $\mu$ A en pulse (voir figure7). Sur 7 cellules du LC enregistrées toutes ont répondu à la stimulation d BLA.

La stimulation de la capsule interne (CI) et du ME n'a pas donné lieu à des activations dans le LC. Etant donné la très petite distance séparant les électrodes de stimulation qui étaient dans le ME, la CI, le CEA et le BLA, les essais dans lesquels les électrodes étaient placées dans ME et CI nous permettent de déduire que les réponses aux stimulations du CEA et BLA sont spécifiques.



**Figure 6.** L'activation d'une cellule à la stimulation de BLA par une intensité de 500 $\mu$ A et une durée de 200 $\mu$ sec en pulse. L'intensité utilisée, est une intensité qui n'engendre pas d'activation dans LC quand la stimulation est appliquée dans le CEA. La figure 6b est l'agrandissement de la 6a. (bins= 5msec)



### IVc. La stimulation de la patte

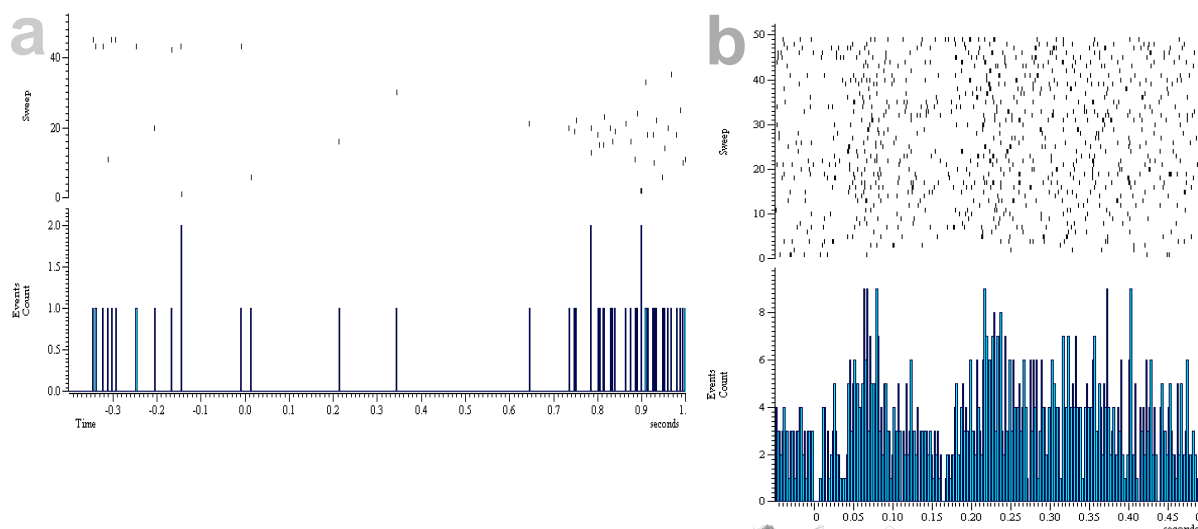
#### *Histologie :*

Sur 5 rats, on a enregistré simultanément l'activité du BLA, CEA et LC. (Voir matériels et méthodes). Sur ces 5 rats, 4 avaient les trois électrodes au bon endroit.

#### *Electrophysiologie :*

Dans le CEA, 10 MU et 10 SU ont été enregistrés. On a obtenu un faible pourcentage de cellules qui se sont activées à la stimulation des pattes (30 % des SU). La latence obtenue à partir des enregistrements dans lesquels il y avait une activation est de 52 msec ( $\pm 15$ ). Aucune inhibition n'a été observée.

L'application du choc électrique a engendré une réponse dans le LC très différente de celle obtenue par la stimulation du CEA. La latence mesurée à partir des 16 activités unitaires et des 6 activités multi unitaires est de 21,4 msec ( $\pm 4.1$ ). Pour une réponse représentative du LC à la stimulation des pattes se rapporter aux figures 9.1a et 9.2a. Toutes les cellules enregistrées ont répondu à la stimulation de la patte.

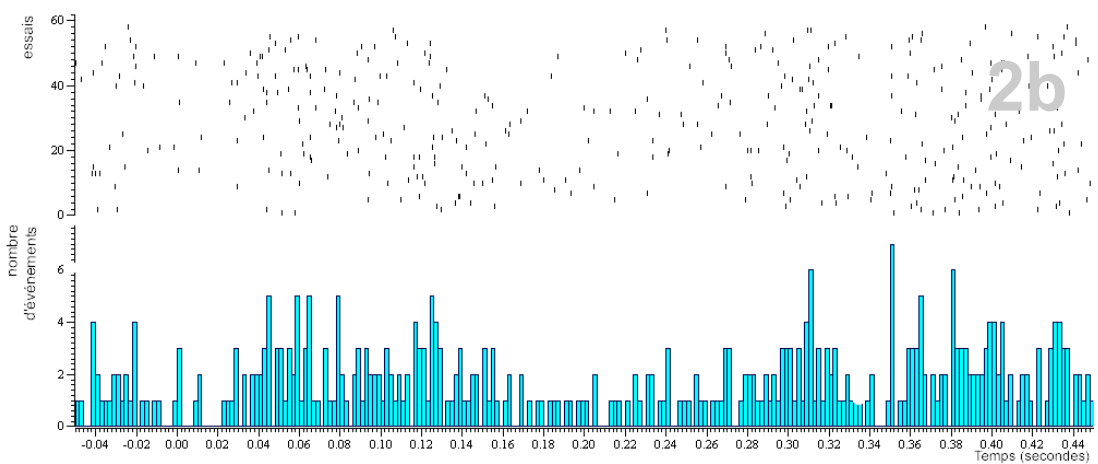
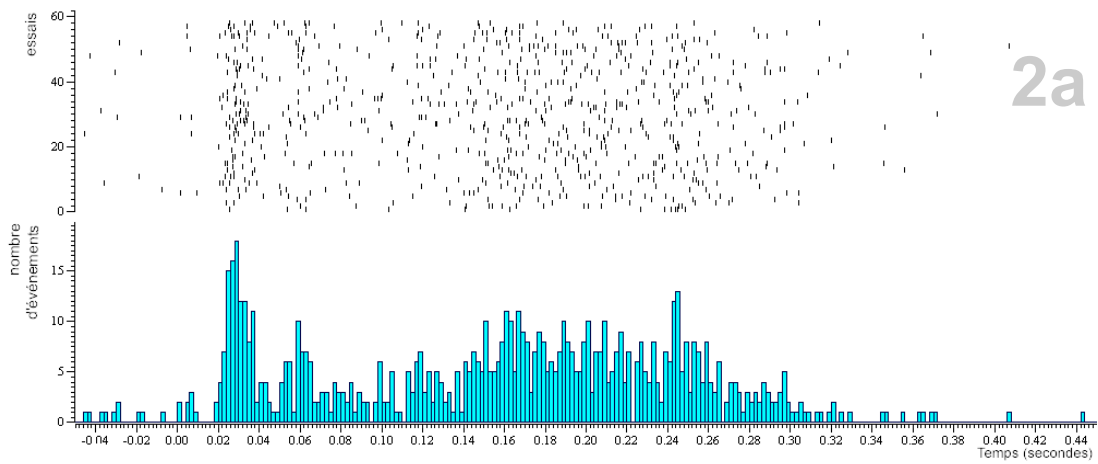
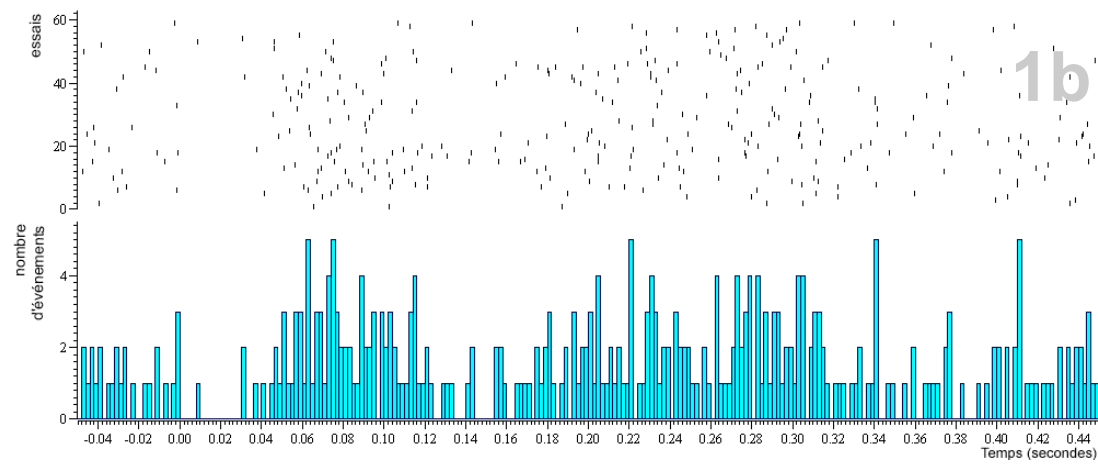
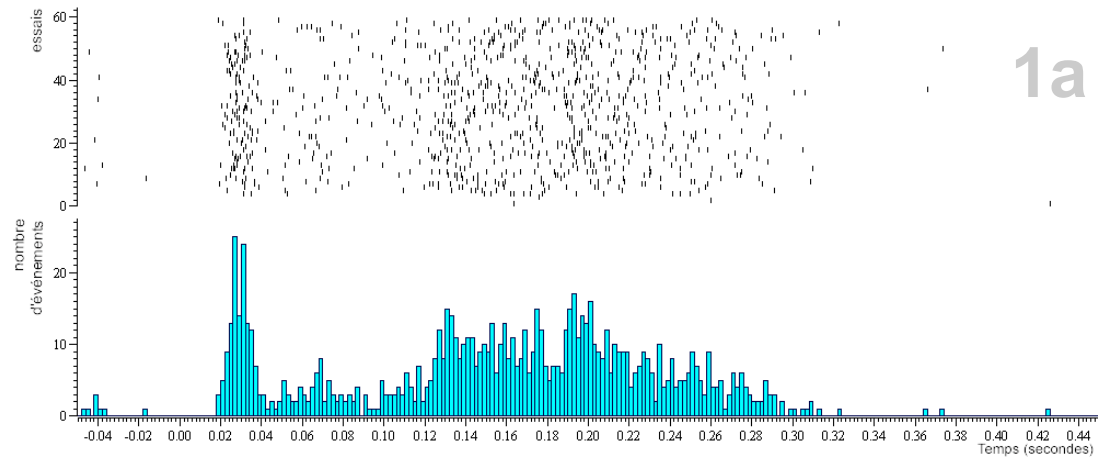


**Figure 8.** 8a. L'inhibition d'une cellule à l'application du choc est présentée. 8b. L'activation d'une cellule de BLA est présentée. Les formes des PA sont présentées en bas de la figure 8b. Les chocs sont délivrés à 0 msec. (bins = 2 msec)

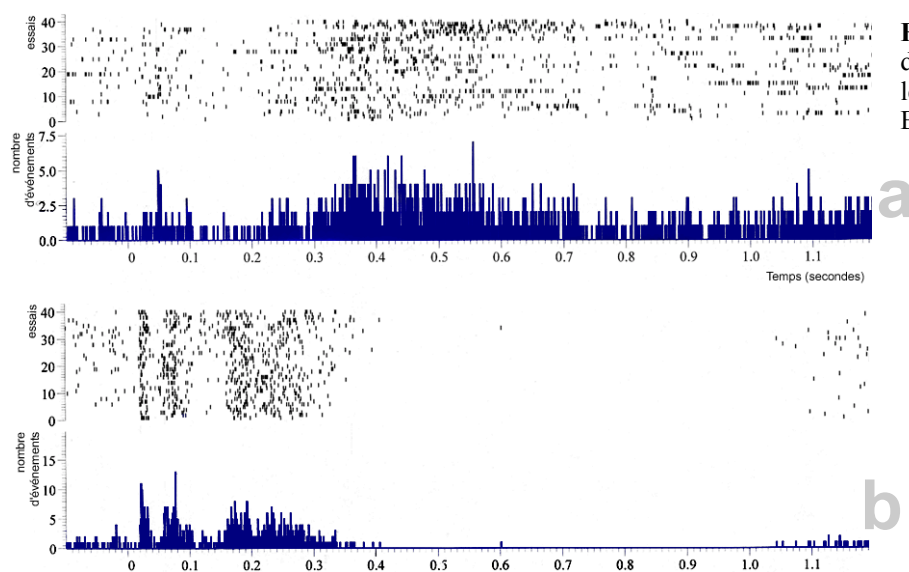
Les enregistrements du BLA nous ont permis d'isoler 14 SU et 4 MU. 5 SU ont manifesté une inhibition, 2 SU une réponse complexe, 7 SU une activation à la stimulation de la patte. Les latences d'activation étaient de 55.4 msec ( $\pm 17.1$ ). La figure 8 présente l'inhibition et l'activation des cellules enregistrées dans le BLA.

A partir des PSTH réalisés, on a constaté que les moments d'activation des cellules du LC correspondaient à des moments d'inactivation des cellules du BLA et de même manière les moments où les cellules du BLA manifeste une activation correspondaient à des moments d'inhibition des cellules enregistrées dans le LC (voir figure 9, page suivante).

**Figure 9.** La relation entre les cellules enregistrées simultanément dans le BLA et le LC. 1a et 2a sont les cellules enregistrées dans le LC et 1b et 2b sont des cellules enregistrées dans le BLA. Les cellules enregistrées dans le LC répondent par une forte décharge avec une latence d'environ 22 msec. Cette grande décharge à latence constante est suivie de 2 à 3 vagues d'activation et d'inhibition donnant lieu à une inhibition qui dure jusqu'à environ 0.7 sec. La latence de ces cellules du BLA est de l'ordre de 55 msec. Il est à noter que pendant la première activation de LC, l'activité du BLA est inhibée et l'activation du BLA ne se réalise qu'une fois cette première activation du LC est terminée. Il est à remarquer que les activations des deux cellules du BLA se réalisent à des moments d'inhibition des deux cellules du LC. Et également les intervalles de temps durant lesquels les cellules de LC sont activées correspondent à des phases dans lesquelles les cellules du BLA manifestent une inhibition. (bins = 2 msec)



A cause de cette relation déduite de l'observation des PSTH, qui semble être une corrélation négative entre les activités des cellules de deux structures en question, on a voulu vérifier l'existence d'un rapport de corrélation négative par le calcul des cross-corrélogrammes entre les couples de cellules. Les cross-corrélogrammes ont été faits sur des fenêtres temporelles prises juste après la stimulation allant de 100 msec à 500 msec pour des cellules de 2 structures. Bien que cette opposition entre les PSTHs soit frappante, aucune corrélation n'a été observée sur les cross-corrélogrammes.



**Figure10.** Une autre paire de cellules enregistrées dans les mêmes structures. a: BLA et b: LC.

## V. Discussion

### *Stimulation du CEA et du BLA*

Jusqu'à maintenant, bien que les connections du CEA et du LC soient décrites à l'échelle anatomique, leur relation sur le plan fonctionnel reste inconnue. Dans ce travail, on a caractérisé pour la première fois électrophysiologiquement l'action du CEA sur le LC. On a mis en évidence un effet exciteur de la stimulation du CEA sur le LC. D'autre part, la stimulation du BLA a évoqué, elle aussi, une réponse excitatrice au niveau du LC avec une latence plus importante mais avec un seuil de stimulation plus bas. Les études anatomiques déjà évoquées ont montré que le CEA établit des connections directes avec le LC tandis que le

BLA se projette sur le CEA. Ce qui suggère que le BLA peut avoir aussi un effet sur le LC via ses projections sur le CEA.

Pour expliquer cette baisse de seuil, on peut suggérer que la stimulation directe du CEA avec ce protocole donne lieu à des effets inhibiteurs, ainsi qu'excitateurs, au niveau du LC. La présence des cellules gabaergiques dans la région péricoeruléen (Jones, 1991) qui seraient activées par la stimulation du CEA, peut être responsable de l'augmentation des seuils de stimulations appliquées dans le CEA. Cet effet inhibiteur de la stimulation n'aurait pas lieu quand celle-ci est appliquée directement sur les cellules du BLA qui activerait le LC peut-être par une autre voie.

Les travaux immunohistochimiques et anatomiques de Van Bockstaele et ses collègues ont suggéré que le CRF pourrait être l'agent responsable de la médiation des effets excitateurs. Dans ces travaux, ils mettaient en évidence que les cellules présynaptiques positivement marquées par le CRF et les cellules postsynaptiques noradrénergiques réalisent des synapses. D'autre part, ils signalaient la présence d'autres vésicules que celles contenant le CRF, dans ces mêmes cellules présynaptiques, soulignant la possibilité que l'effet du CEA sur le LC pourrait en fait être plus complexe qu'une simple activation, mais pourrait contenir des composants inhibiteurs. Une autre raison de l'existence des différences des seuils pourrait résider dans la présence de ces divers composants. Par exemple les différents patterns d'activation pourraient jouer sur les différents types de neurotransmetteurs.

Pour le moment, des expériences réalisées au laboratoire d'accueil à la suite de ces travaux utilisant le même protocole de stimulation du CEA en injectant une antagoniste du CRF dans le LC ont permis de montrer que la présence de l'antagoniste fait diminuer l'intensité de la première phase de la réponse sans que la deuxième phase de l'activation ne soit affectée (Bouret & Sara, communication personnelle). La diminution partielle de l'activation de la première phase suggère que le CRF n'est pas le seul neurotransmetteur médiant l'excitation du LC par le CEA en concordance avec les travaux anatomiques et immunohistochimiques.

### *Signification fonctionnelle de l'action du CEA sur le LC*

On a montré que la stimulation du CEA excite le LC ce qui signifie que dans les contextes où se réalise l'excitation du CEA, l'activation du LC aura lieu. Cela aura comme conséquence le relargage de NA dans les régions antérieures du cerveau.

Certaines études ont montré que la stimulation de l'amygdale améliore la transmission synaptique et la plasticité à long terme dans le gyrus denté de l'hippocampe (Akirav & Richter-Levin, 1999a, b). Cet effet pourrait être expliqué par la libération de la NA dans le gyrus denté par les terminaisons du LC, à la suite de son activation par le CEA.

De la même façon, dans d'autres régions du cerveau, cet effet de l'activation du CEA ou du BLA sur le LC, durant les contextes de conditionnement pourrait moduler les activités neuronales nécessaires pour l'attention et déclencher les phénomènes de plasticité synaptique nécessaires pour l'apprentissage discutés dans les chapitres précédents.

Les expériences de Ledoux ont suggéré que le LA serait le site de plasticité où tiendrait lieu l'association entre le CS et l'US. Le principe était alors qu'une simple contingence entre le CS et l'US suffisait à l'établissement de l'apprentissage associatif (Bauer et al., 2001). Or une expérience faite par Ahissar et ses collègues (1992) sur le singe a montré clairement que la simple contingence entre deux activités neuronales n'est pas une condition suffisante pour déclencher un mécanisme hebbien de plasticité synaptique. Dans ces expériences, les forces des synapses entre deux activités neuronales simultanées ne se sont renforcées que si le singe se trouvait dans un contexte comportemental. Ces auteurs proposent que c'est la libération des neuromodulateurs tel que NA, Ach et/ou dopamine, déclenché par un élément de la situation comportementale, qui permettrait la plasticité synaptique. Ces observations, accompagnées du fait que les différentes substances comme la NA possèdent des propriétés permissives dans l'induction de la plasticité synaptique, nous pousse à supposer la nécessité de l'intervention de mécanismes neuromodulateurs en plus de la simple contingence des activités neuronales pour la mise en place de l'apprentissage associatif au sein du LA. Cette idée est cohérente avec les connaissances anatomiques concernant les connections entre le LA, le CEA et le LC. Pendant un protocole de conditionnement l'activation du CEA par le LA conduirait à l'activation du LC qui à son tour se projetant sur le LA y libérerait de la NA.

Les travaux de Gallagher et ses collègues présentés plus haut ont permis de mettre en évidence l'implication du CEA dans des processus de modulation attentionnelle. Dans la médiation de ces effets sur l'attention, ils mettent l'accent essentiellement sur les connections du CEA avec le noyau cholinergique: le Noyau Basal de Meynert (Chiba et al., 1995). Généralement, dans ces travaux les connections entre le CEA et le LC sont négligées bien qu'anatomiquement connues. D'autre part, il existe des études qui ont montré l'implication de



concert de l'Ach et de la NA (Bear & Singer, 1986) sur les phénomènes de plasticité, suggérant que ces substances donc les noyaux sources de ces substances peuvent avoir des rôles complémentaires. C'est dans ce sens que notre travail, caractérisant électrophysiologiquement l'action du CEA sur le LC chez l'animal anesthésié, relie les travaux de ce qui cherchent à établir l'implication du CEA dans des processus attentionnels avec les travaux mettant en évidence l'implication de LC dans les processus attentionnels et mnésiques.

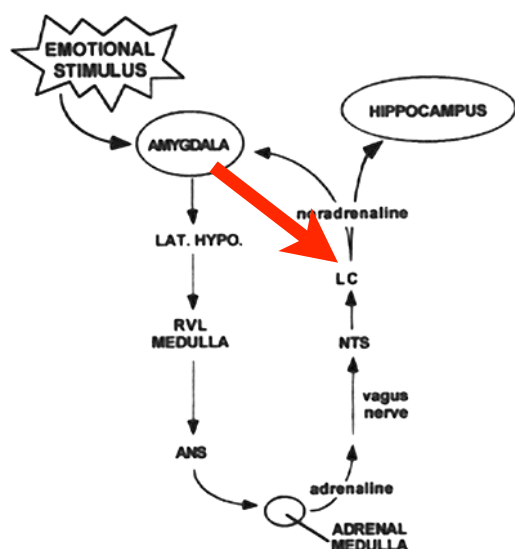
Le fait que l'excitation du LC peut être obtenue par la stimulation du CEA nous ouvre la possibilité de critiquer les résultats obtenus par l'équipe de McGaugh déjà présentés. Nos résultats suggèrent que l'excitation du CEA conduira à l'activation du LC. McGaugh propose une boucle de régulation prenant son départ dans l'amygdale, passant par les glandes adrénérquiques surrénales qui contrôlerait l'activité du LC dont les terminaisons en libérant, en retour, la NA dans le BLA aurait des effets sur les processus de consolidation (circuit présenté dans la figure 3). Or nos résultats mettent en évidence que l'activation du CEA peut très bien activer le LC qui, en retour, peut agir sur le BLA sans que l'activation des glandes surrénales soit mis en jeu.

Nous pensons que cette relation suggérée par McGaugh et ses collègues, entre l'adrénaline et les processus mnésiques n'est pas *une action spécifique* au sens biologique du terme. Ce qu'on veut dire c'est que dans les systèmes biologiques, le fait que deux composants agissent l'un sur l'autre d'une manière réciproque ou non, n'implique pas forcément une fonction spécifique pour cette action. L'adrénaline est une hormone qui agit sur un grand nombre de cibles induisant des changements aux multiples niveaux au sein de l'organisme lors qu'elle est sécrétée naturellement ou artificiellement. De ce fait, il est aussi plausible qu'elle agisse sur le système noradrénérquique central, et que par conséquent la NA agisse sur les structures vers lesquelles le LC se projette modulant ainsi les processus de consolidation.

Une argumentation plus solide peut être proposée en considérant l'organisme sur un plan évolutionniste : Les glandes adrénérquiques sont d'origine nerveuse et se situent en périphérie par rapport au système nerveux central, ce qui suggère qu'au cours de l'évolution, une divergence fonctionnelle se soit produit selon une certaine nécessité donnant lieu à cette cloison entre le système adrénérquique périphérique et le système central noradrénérquique. Nous ne voyons donc pas de raison pour rassembler les deux systèmes dans un plan fonctionnel biologiquement pertinent comme la démarche de McGaugh. Il est à noter qu'ici, il

n'est pas question de nier les effets de l'adrénaline sur les processus mnésiques mais notre tentative est de révéler une nouvelle voie d'action noradrénalo-amygdalienne plus spécifique. Bien que des données fonctionnelles nous manquent, les résultats obtenus nous permettent de spéculer sur la possibilité de « court-circuiter » la voie de McGaugh par l'action directe du CEA sur le LC sans qu'il soit sous le contrôle des hormones adrénergiques périphériques.

### *Stimulation de la patte*



**Figure 11.** Les résultats suggérant un possible interaction entre le BLA et le LC permettent de « court-circuiter » le circuit proposé par McGaugh et ses collègues.

On a obtenu une forte excitation du LC avec une courte latence à la stimulation de la patte. Les réponses obtenues dans le LC sont homogènes dans le sens que toutes les cellules enregistrées répondent à la stimulation. En revanche, les réponses obtenues dans le CEA à la stimulation de la patte ne sont pas aussi consistantes que celles du LC, et d'autre part la latence de l'activation des cellules est plus grande. Ceci élimine la possibilité d'une activation du LC par le CEA dans ce contexte.

Ainsi lors de l'administration d'un choc

électrique sur la patte, le LC serait activé par d'autres connections que celle du CEA.

Concernant le BLA, les latences d'activations des cellules sont plus longues que celles du LC. Et il faut noter que l'activation de ces cellules se réalise aux moments de l'inactivation des cellules du LC. Bien qu'on visualise de manière frappante sur les PSTH cette relation inverse dans les dynamiques de réponse de ces deux structures, les cross-corrélogrammes ne permettent pas de mettre en évidence une relation cellule à cellule. La raison peut résider dans l'existence d'une relation plutôt « lâche » entre les cellules des deux noyaux. Ainsi, plutôt qu'une communication cellulaire de type synaptique, la libération diffuse de NA sur le BLA par le LC pourrait expliquer la formation de ces patterns de complémentarité entre les activités du BLA et du LC. Cette hypothèse est confortée par le fait qu'on a pu enregistrer des doublets de neurones (appartenant au BLA et au LC) qui ont manifesté des patterns de complémentarité de types différents. C'est à dire que les patterns de complémentarité obtenus n'étaient pas toujours strictement identiques mais qu'une complémentarité était toujours

présente entre les PSTH des cellules du BLA et du LC. La figure 10 présente ainsi un autre pattern de complémentarité des PSTH. Pour valider l'existence d'une action du LC il faudra réaliser la même expérience en enregistrant l'activité du BLA pendant l'application dans le BLA les antagonistes convenables des récepteurs noradrénergiques.

A ce stade, on peut se contenter de suggérer que le LC a une influence inhibitrice tonique sur le BLA, étant donné que l'activité du BLA ne se manifeste fortement que pendant les périodes d'auto inhibition du LC et s'annule pendant l'activation du LC. Si l'action du LC sur le BLA s'avérait électrophysiologiquement caractérisée, il faudrait encore en dégager la signification fonctionnelle. Mais il nous est possible d'émettre une hypothèse au sujet d'une possible implication fonctionnelle de cette relation. Premièrement, on a vu que l'activation du CEA excite d'une manière consistante le LC. Cette relation est bien caractérisée dans notre travail. Pendant l'application du choc électrique à la patte, nous avons espéré mettre en évidence un contrôle du CEA sur le LC. Mais les résultats obtenus n'ont pas confirmé cette idée mettant en évidence expérimentalement que l'activation du LC est plus précoce que celle du CEA. Bien que dans ce contexte, le CEA ne soit pas responsable de la régulation du contrôle du LC; dans d'autre situation où le CEA serait activé cela aura un effet activateur sur le LC. Ca voudrait dire qu'à chaque activation du LC par le CEA, l'activation de BLA serait alors réalisée pendant les périodes d'auto inhibition du LC. Et il est possible que cette activation du BLA soit responsable de la médiation des effets de modulation sur la consolidation mnésique: Bien que cela soit plausible, il faudrait plusieurs autres études permettant d'expliquer comment la présence des antagonistes dans le NA serait responsable des effets amnésique (McGaugh & Roozendaal, 2002). C'est à dire qu'il faudrait caractériser le processus biologique au niveau cellulaire responsable de l'action de la NA.

Il faut noter également que toutes nos expériences ont été réalisées sur les animaux anesthésiés, ce qui peut conduire à des changements non négligeables dans l'interaction entre les différentes structures cérébrales. Pour cette raison, il est nécessaire de réaliser des expériences sur l'animal vigile et en situation d'apprentissage comme par exemple les protocoles utilisés par Gallagher et ses collègues dont les travaux ont été cités antérieurement, pour caractériser la relation entre le CEA et le LC.

## V. Conclusion

Le CEA, le BLA et le LC forment un réseau de noyau participant à des divers processus comme l'apprentissage associatif, l'attention et modulation des processus mnésiques. Bien que sur le plan anatomique leur interconnexion soit bien caractérisée leur interaction sur le plan fonctionnel n'est pas assez bien connue.

Dans ce travail, on a mis en évidence que la stimulation du CEA et du BLA excite le LC, première caractérisation sur le plan électrophysiologique de l'action du CEA sur le LC. L'action excitatrice du CEA sur le LC rassemble les données obtenues par les chercheurs comme Gallagher qui étudient la relation entre le CEA et l'attention, et les travaux d'autres s'intéressant sur la relation du LC avec l'attention et l'apprentissage.

En plus, durant notre démarche d'identification de la dynamique des activités de ces structures pendant l'application d'un stimulus inconditionnel, nos résultats ont suggéré la possibilité d'une action de la NA sur le BLA. Bien que la causalité de la relation ne puisse pas être déduite à partir de nos résultats, cela a ouvert la possibilité de proposer une voie qui court-circuiterait la voie proposée par McGaugh et ses collègues.

## Bibliographie

- Adolph R., Tranel D., Damasio H., Damasio A., (1994), Impaired recognition of emotion in facial expressions following bilateral damage to the human amygdala, *Nature* 372: 669-672
- Ahissar E., Vaadia E., Ahissar M., Bergman H., Arieli A., Abeles M., (1992), Dependence of cortical plasticity on correlated activity of single neurons and on behavioral context, *Science* 257: 1412-1415

- Amorapanth P., Ledoux J.E., Nader K., (2000), Different lateral amygdale outputs mediate reactions and actions elicited by a fear-arousing stimulus, *Nature Neuroscience* 3 (1): 74-79
- Aston-jones G., Bloom F., (1981), Activity of norepinephrine-containing locus coeruleus neurons in behaving rats anticipates fluctuations in the sleep-waking cycle, *J. Neurosci.* 1: 876-886
- Aston-jones G., Bloom F., (1981), Norepinephrine-containing locus coeruleus neurons in behaving rats exhibit pronounced responses to nonnoxious environmental stimuli, *J. Neurosci.* 1: 887-900
- Aston-jones G., Ennis M., Pieriborne V.A., Nickell W.T., Shipley M.T., (1986), The brain nucleus locus coeruleus : Restricted afferent control of a broad efferent network, *Science*, 234: 734-737
- Aston-jones G., Rajkowski J., Kubiak P., (1997), Conditioned responses of monkey locus coeruleus neurons anticipate acquisition of discriminative behavior in a vigilance task, *Neuroscience* 80: 697-715
- Bauer E.P., Ledoux J.E., Nader K., (2001), Fear conditioning and LTP in the lateral amygdala are sensitive to the same stimulus contingencies, *nature neuroscience* 4(7) 687-88
- Bear M.F., Singer W. (1986), Modulation of visual cortical plasticity by acetylcholine and noradrenaline, *Nature* 320: 172-175
- Beaudet, A., Descarries L., (1978), The monoamine innervation of rat cerebral cortex : synaptique and non synaptique axon terminals, *Neuroscience* 3: 851-860
- Berridge C.W., Foote S.L., (1991) Effects of locus coeruleus activation on electroencephalographic activity in neocortex and hippocampus, *J. Neurosci* 11: 3135-3145
- Berridge C.W., Page M. E., Valentino R.J., Foote S.L., (1993), Effects of locus coeruleus inactivation on electroencephalic activity in neocortex and hippocampus, *Neuroscience* 55: 381-393
- Bliss T.V.P., Lomo T., (1973), Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path, *J. Physiol.* 232: 331-56
- Cedarbaum J.M., Aghajanian G.K., (1978), Afferent projections to the rat locus coeruleus as determined by a retrograde tracing technique, *J. Comp. Neurol.* 178: 1-16
- Chiba A.A., Bucci D.J., Holland P.C., Gallagher M., (1995), Basal forebrain cholinergic lesions disrupt increments but not decrements in conditioned stimulus processing, *The journal of Neuroscience* 15(11): 7315-7322
- Davis M., Rainnie D., Cassell M., (1994), Neurotransmission in the rat related to fear and anxiety, *Trends in neuroscience* 17(5): 208-215
- Edeline J.M., Sara S.J., (1993), Sharpening frequency receptive fields of auditory cortex neurons by idazoxan-induced release of norepinephrine, *Soc., Neurosci. Abstr* 784:4
- Ferry B., Roozendaal B., McGaugh J.L., (1999), Basolateral amygdale noradrenergic influences on memory storage are mediated by an interaction between  $\beta$ - and  $\alpha$ 1-adrenoreceptors, *J Neurosci* 19: 5119-5123
- Foote S.L., Aston-Jones G., Bloom F. E., (1980), Impulse activity of locus coeruleus neurons in awake rats and monkeys is a function of sensory stimulation and arousal, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 77: 3033-3037

- Foote S.L., Freedman R., Oliver A.P., (1975), Effects of putative neurotransmitters on neuronal activity in monkey auditory cortex, *Brain Res.* 86: 229-242
- Freeman W.J., (1994), Neural networks and Chaos, *J. Theoretical Biology* 171: 13-18
- Fumie Naka, Takashi Shiga, Masae Yaguchi, Nobuo Okado, (2002) An enriched environment increases noradrenaline in the mouse brain, *Brain research* 924: 124-126
- Gallager M., Graham P.W., Holland P.C., (1990), the amygdale centrale nucleus and appetitive pavlovian conditioning: lesions impair one class of conditioned behaviour, *The journal of Neuroscience* 10(6): 1906-1911
- Gallagher M., Schoenbaum G. , (1999), Functions of the amygdala and related forebrain areas in attention and cognition, *Annals of the New York Academy of Sciences* 877: 397-411
- Gewirtz J.C., Davis M., (1997), Second-order fear conditionning prevented by blocking NMDA receptors in amygdala, *Nature* 388: 471-74
- Gray CM, Freeman WJ, Skinner JE, (1986), Chemical dependencies of learning in the rabbit olfactory bulb: acquisition of the transient spatial pattern change depends on norepinephrine, *Behav. Neurosci.* Aug100(4): 585-96
- Harley C.W., Lacaille J.C., Milway S., (1982), Potentiation of the perforant path evoked potential in the dendate gyrus by locus coeruleus stimulation, *Neurosci. Abst.* 8:483.
- Hervé-minvielle A., Sara S.J., (1995), Rapid Habituation of auditory responses of locus coeruleus cells in anaesthetized and awake rats, *Neuroreport* 6: 1235-1240
- Hoffer B.J., Siggins G.R., Bloom F.E., (1971), Studies on norepinephrine-containing afferents to purkinje cells of rat cerebellum. II. Sensibility of purkinjee cell to norepinephrine and related substances adlinestred by microiontophoresis, *Brain Res* 25: 522-534
- Holland P.C., Galagher M, (1993), Amygdala centrale nucleus lesions disrupt increments, but not decrements, in conditioned stimulus processing, *Behavioral Neuroscience* 107 (2): 246-253
- Hull, (1934), Learning: II.The factor of conditioned reflex. In: *A handbook of general experimental psychology* (Murchison C, ed), pp 382-455. Worcester, MA: Clark U.
- Izumi Y., Zorumski C.F., (1999), Norepinephrine promotes long term potentiation in the adult rat hippocampus in vitro, *Synapse* 31: 196-202
- Jones B.E., Moore R.Y., (1977), Ascending projections of the locus coeruleus in the rat : Autoradiographic study, *Brain Res.* 127: 23-53
- Kapp B.S., Frysinger R.C., Gallager M., Haselton J.B., (1979), *Physiol. Behav.* 23: 1109-1117
- Kapp B.S., Supple W.F., Whalen P.J., (1994), Effect of electrical stimulation of the amygdaloid central nucleus on neocorticalarousal in the rabbit, *Behavioural Neuroscience* 108(1): 81-93
- Kasamatsu T., Heggelund P., (1982), Single cell response in cat visual cortex to visual stimulation during iontophoresis of noradrenaline, *Exp. Brain Res.* 45: 317-327
- Kim J.J., Fanselow M.S., (1992), Modality specific retrograde amnesia of fear, *Science*, 256: 675-677
- Kluver I.I., Bucy P.C., (1939), Preliminary analysis of the temporal lobes in monkeys, *Arch of neurology and Psychiatry* 42: 979-1000
- Ledoux J.E., (1998), The emotional brain, *First touch edition*.
- Ledoux J.E., (2000), Emotion circuits in the brain, *Ann. Rev. Neuroscience* 23: 155-184

- Li X., Phillips R.G., Ledoux J.E., (1995), NMDA and Non-NMDA receptors contribute to synaptic transmission between the medial geniculate body and the lateral nucleus of the amygdala, *Exp. Brain Res.* 105: 87-100
- Liang K.C., Juler R., McGaugh J.L., (1986), Modulating effects of posttraining epinephrine on memory: involvement of the amygdala noradrenergic system, *Brain Res.* 368: 125-133
- Loewy A.D., McKellar S., (1980), The Neuroanatomical basis of cardiovascular control, *Fed. Proc.* 39: 2495-2503
- Luppi, P.-H., Aston-Jones G., Akaoka H., Chouvet G., Jouvet M., (1995), *Neuroscience* 65 : 119-160
- Mackintosh N.J., (1975), A theory of attention : Variations in the associability of stimuli with reinforcement, *Psychological Review* 82: 276-298
- Mantz J., Milla C., Glowinski J., Therry A.M., (1988), Differential effects of ascending neurons containing dopamine and noradrenaline in the control of spontaneous activity and of evoked responses in the rat prefrontal cortex, *Neuroscience* 27: 517-539
- Maren S. et al., (1996), Retrograde abolition of conditional fear after excitotoxic lesions in the basolateral amygdala of rats: absence of a temporal gradient, *Behav. Neurosci.* 110: 718-726
- Maren S., (1999), Long-term potentiation in the amygdala : a mechanism for emotional learning and memory, *Trends in Neuroscience* 22(12): 561-567
- Maren S., Aharonov G., Stote D.L., Fanselow M.S., (1996), N-methyl-D-aspartate receptors in the basolateral amygdala are required for both acquisition and expression of the conditional fear in rats, *Behav. Neurosci.* 110: 1365-74
- McGaugh J.L., Roozendaal B., (2002), Role of adrenal stress hormones in forming lasting memories in the brain, *Current Opinion in Neurobiology* 12: 205-210
- Miserendino M.J.D., Sananes C.B., Melia K.R., Davis M., (1990), Blocking of acquisition but not expression of conditioned fear-potentiated startle by NMDA antagonists in the amygdala, *Nature* 345: 716-18
- Moises H.C., Waterhouse B.D., Woodward D.J., (1983), Locus Coeruleus stimulation potentiates local inhibitory processes in rat cerebellum, *Brain Res., Bull.* 10: 795-804
- Olpe H.R., Glatt A., Laszlo J., Schellenberg A., (1980) Some electrophysiological and pharmacological properties of the cortical, noradrenergic projection of the locus coeruleus in the rat, *Brain Res.* 186: 9-19
- Papadopoulos G.C., Parnavelas, J.G., Buijs R.M., (1989) Light and electron microscopic immunocytochemical analysis of noradrenaline innervation of the rat visual cortex, *J. Neurocytol.* 18: 1-10
- Parnavelas, J.G., Papadopoulos G.C., (1989), The monoaminergic innervation of the cerebral cortex is not diffuse and non specific, *Trends Neurosci.* 12: 315-319
- Paxinos G., Watson C., (1986), The rat brain in stereotaxic coordinates, second edition, *Academic Press, Inc.*
- Pearce J. M., Hall G., (1980), A model for pavlovian learning: Variations in the effectiveness of conditioned but not of unconditioned stimuli, *Psychological Review* 106: 532-552

- Phillips H., Tebecis A.K., York D.H., (1967), The inhibitory action of monoamines on lateral geniculate neurones, *J. Physiol.* 190: 563-581
- Pisa M., Fibiger H., (1983), Intact selective attention in rats with lesions of the dorsal noradrenergic bundle, *Behavioral Neuroscience* 4: 519-529
- Plewnia C., Bartels M., Cohen L., Gerloff C., (2001), Noradrenergic modulation of human cortex excitability by the presynaptic  $\alpha_2$ -antagonist yohimbine *Neuroscience Letters* 307: 41-44
- Rajkowski J., Kubiak P., Aston-Jones G., (1994), Locus coeruleus activity in monkey : Phasic and tonic changes are associated with altered vigilance, *Brain Res. Bull.* 35: 607-616
- Robbins T., Everitt B., (1978), Comparative functions of the central noradrenergic, dopaminergic and cholinergic systems, *Neuropharmacology* 26: 893-901
- Rogawski M.A., Aghajanian G ;K. 1980, Modulation of lateral geniculate neuron excitability by noradrenaline microiontophoresis or locus coeruleus stimulation, *Nature* 287: 731-734
- Romansky L.M. et al., (1993), somatosensory and auditory convergence in the lateral nucleus of the amygdala, *Behav. Neurosci.* 107: 444-450
- Sara S.J., Bergis O. (1991), Enhancement of excitability and inhibitory process in hippocampal dentate gyrus by noradrenaline : a pharmacological study in awake, freely moving rats. *Neurosci. Lett.* 126: 1-5
- Sara S.J., Hervé-minvielle A., (1995), Inhibitory influence of frontal cortex on locus coeruleus neurons, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92: 6032-6036
- Sara S.J., Segal M., (1991) Plasticity of sensory responses of locus coeruleus neurons in the behaving rat : implication for cognition, *Progress in Brain Research* 88: 571-582
- Sara S.J., Vankov A., Hervé A., (1994) Locus Coeruleus-evoked responses in behaving rats: A clue to the role of noradrenaline in memory, *Brain Research Bulletin* 35. Nos.5/6. pp.457-465
- Scott S.K., Young A.W., Calder J.A., Hellawell J.D., Aggleton J.P., Johnson M., (1997), Impaired auditory recognition of fear and anger following bilateral amygdala lesions, *Nature* 385: 254-257
- Segal M., Bloom F.E., (1974a), The action of norepinephrine in the rat hippocampus I. iontophoretic studies, *Brain Res.* 72: 79-97
- Segal M., Bloom F.E., (1974b), The action of norepinephrine in the rat hippocampus II. Activation of the input pathways, *Brain Res* 72:99-114
- Selden N., Cole B., Everitt B., (1990), Damage to ceruleo-cortical noradrenergic projections impairs locally cued but enhances spatially cued water maze acquisition, *Behav. Brain Res.* 39:29-51
- Stanton P.K., Sarvey J.M., (1985), Depletion of norepinephrine, but not serotonin, reduces long-term potentiation in the dentate gyrus of rat hippocampal slices, *J. Neurosci.* 5, 2169-2176
- Swanson L.W., (1976), The locus coeruleus: a cytoarchitectonic, Golgi and immunohistochemical study in the albino rat, *Brain Res.* 110: 39-56
- Swanson L.W., Petrovich G.D., (1998), What's the amygdala?, *Trends in neuroscience* 21(8), 323-331



- Van Bockstaele E.J., Chan J., Pickel V.M., (1996), Input from central nucleus of the amygdale efferents to pericoerulear dendrites, some of which contain tyrosine hydroxylase immunoreactivity, *Journal of Neuroscience* 45:289-302
- Van Bockstaele E.J., Colago E.E.O., Valentino R.J., (1998), Amygdaloid Corticotropin-Releasing Factor targets Locus Coeruleus dendrites: Substrate for the co-ordination of emotional and cognitive limbs of the stress response, *Journal of Neuroendocrinology* 10:743-757
- Waterhouse B.D., Woodward D., (1980) Interaction of norepinephrine with cerebrocortical activity evoked by stimulation of somatosensory afferent pathways in rat, *Exp. Neurol* 67:11-34
- Weisskopf M.G., Bauer E., Ledoux J.E., (1999), L-type voltage gated calcium channels mediate NMDA-independent associative long-term potentiation at thalamic input synapses to the amygdala, *J. Neurosci.* 10512-19
- Wilensky A.E., Schafe G.E., Ledoux J.E., (1999), Functional inactivation of the amygdale before but not after auditory fear conditioning prevents memory formation, *J. Neurosci.* 19:RC48
- Williams C.L., Men D., Clayton E.C., (2000), The effects of noradrenergic activation of the nucleus tractus solitarius on memory and in potentiating norepinephrine release in amygdale, *Behav. Neurosci.* 114: 1131-1144
- Williams C.L., McGaugh J.L., (1993), Reversible lesions of the nucleus of the solitary tract attenuate the memory-modulating effects of posttraining epinephrine, *Behav. Neurosci.* 107: 1-8
- Wilson P.N., Boumphrey P., Pearce J.M., (1992), *Q. J. Exp. Psychol. B* 44, 17-36
- Zigmond M.J., Bloom F.E., Landis C.S., Squire L.R. (1995), Fundamental Neuroscience first edition, *Hardcover Edition*