

Résumé en français du manuscrit :

Deciphering Fear Related Brain-Body States: Identification of a New Freezing Type

La peur est une émotion fondamentale qui permet aux individus de réagir face aux menaces pour assurer leur survie. En raison de son caractère stéréotypé, de son implication dans les troubles psychiatriques et de sa conservation à travers les espèces, elle est l'émotion la plus étudiée en neurosciences. Lorsqu'elle est déclenchée, elle induit un état coordonné impliquant à la fois des modifications comportementales, physiologiques (cardiaque, respiratoire, etc.) et cérébrales. Ces réponses, largement synchronisées, traduisent une organisation dynamique qui dépasse la seule activité neuronale.

Traditionnellement, l'étude de la peur chez le rongeur se concentre sur l'immobilité induite par un stimulus menaçant, appelé *freezing*. Cependant, ces travaux se sont principalement concentrés sur les mécanismes cérébraux, en négligeant l'importance des interactions qu'il peut exister avec le corps. De plus, les précédentes études reposent massivement sur des protocoles expérimentaux de référence qui reflètent de manière limitée les conditions naturelles auxquelles les animaux sont confrontés.

En combinant l'enregistrement simultané de l'activité neuronale et de variables corporelles (activité cardiaque, respiratoire, musculaire,...) dans un nouveau protocole modélisant explicitement la distance à la menace, mes travaux ont permis d'identifier un nouvel état d'immobilité dans une situation aversive. Il a ensuite pu être démontré qu'il était associé à une récupération du stress induit par la confrontation avec une menace, processus indispensable pour assurer un retour aux comportements exprimés en l'absence de menace.

Cette méthodologie a ensuite été appliquée à des furets libres de leurs mouvements pour caractériser leurs états de vigilance.

Dans une perspective plus globale, cette approche ouvre la voie à une caractérisation plus intégrée des états cérébraux, en tenant compte de leur dynamique et de leurs signatures corporelles. Elle permet notamment d'affiner notre compréhension des états de défense et attentionnels, qui ne peuvent être réduits à leur seule expression neuronale mais résultent d'une coordination multisystémique essentielle à l'adaptation.

- Le premier projet s'est concentré sur la caractérisation corporelle et neuronale de deux types d'immobilité exprimés face à une menace associés respectivement à la peur et la récupération.
- Le deuxième projet vise à décrire de manière plus complète l'ensemble des comportements défensifs exprimés en fonction de la proximité d'un animal à une menace et leurs sensibilité pharmacologique.
- Le troisième projet a pour but d'utiliser un nouveau marqueur cérébral reflétant un processus corporel (les oscillations gamma du bulbe olfactif suite à la respiration) afin de classer les états de vigilance et d'attention chez le furet.

I. Réactivations aversives et transition vers un état récupératif à respiration lente

Les animaux doivent surmonter deux défis face aux situations menaçantes : éviter le danger immédiat et se remettre du stress pour reprendre leurs activités. Les comportements défensifs, comme le freezing et l'évitement, sont cruciaux mais engendrent un stress perturbant l'homéostasie. La récupération, essentielle à cette restauration, reste peu étudiée malgré son rôle clé. Des preuves récentes suggèrent que la respiration joue un rôle clé dans les processus défensifs (Bagur et al. 2021) et d'adaptation émotionnelle. Notamment, la respiration lente semble associée aux états calmes et à la réduction du stress (De Sousa Abreu et al. 2024). L'hippocampe, grâce à ses réactivations via les sharp-wave ripples (SWR), jouerait un rôle central dans la représentation de localisation distante, notamment liées à un danger (Wu et al. 2017), cependant le rôle de ces représentations n'a jamais été étudié causalement. Pour répondre à ces interrogations, nous avons utilisé une tâche d'évitement spatial modélisant explicitement la proximité à une menace afin d'analyser les états et comportements exprimés, tout en suivant l'activité neuronale hippocampique et somatique.

A la suite du développement d'une nouvelle tâche d'évitement spatial (U-Maze), j'ai identifié deux profils distincts d'états cerveau-corps lors du même comportement d'immobilité (freezing) exprimés à proximité et à distance de la menace. L'immobilité à proximité de la menace correspond à un état de forte activation corporelle, accompagné d'une activité hippocampique impliquée dans l'encodage de l'information. À distance, en revanche, un second état se distingue par une faible activation corporelle et de nombreuses réactivations hippocampiques. L'analyse des dynamiques neuronales en population a révélé que, durant cette phase de faible activation, les cellules de lieu hippocampiques rejouent de manière coordonnée les souvenirs associés à la zone de menace, suggérant un rôle clé dans le traitement et la consolidation de l'expérience du danger.

Pour tester l'importance fonctionnelle de ces réactivations, nous avons utilisé une technique d'intervention causale pour supprimer ces réactivations hippocampiques en temps réel. Nos résultats montrent que cette suppression n'altère pas l'apprentissage spatial, mais perturbe spécifiquement l'état de faible activation et conduit à une augmentation des marqueurs de stress après la tâche. Cela suggère que les réactivations hippocampiques jouent un rôle essentiel dans la mise en place d'un état de récupération après un stress lié à la peur dans une zone sûre pour l'animal.

Ces résultats mettent en évidence une fonction jusque-là méconnue des réactivations hippocampiques : la facilitation de la récupération émotionnelle. Alors que la recherche sur la peur s'est principalement concentrée sur les mécanismes de défense face à des menaces immédiates, notre travail introduit une nouvelle perspective en montrant que les animaux développent des stratégies d'adaptation émotionnelle afin de récupérer du stress induit par la situation. Ces découvertes ouvrent des pistes prometteuses pour comprendre comment le cerveau gère le stress après une situation dangereuse, mécanismes suspectés d'être affectés dans le cas du syndrome de stress post-traumatique et l'anxiété. À plus long terme, cette recherche pourrait inspirer des approches cliniques visant à renforcer les mécanismes de récupération via des interventions pharmacologiques ou comportementales.

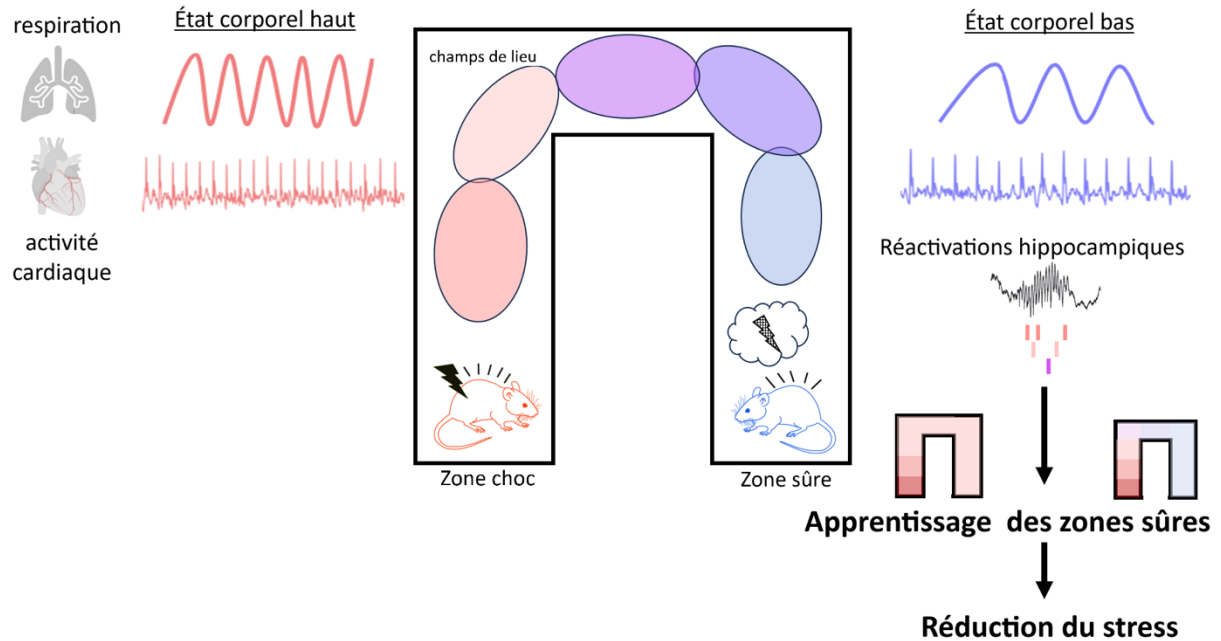


Figure 1 : résumé graphique — États d'immobilité observés dans le labyrinthe en U. L'immobilité du côté "choc" (en rouge, à gauche) se caractérise par un état corporel fortement activé, notamment une fréquence respiratoire élevée (4–6 Hz). À l'inverse, l'immobilité du côté "sûr" (en bleu, à droite) présente un état corporel apaisé, avec une respiration plus lente (2–4 Hz) et de nombreuses réactivations hippocampiques des cellules de lieu associées au côté choc. Ces réactivations sont causalement nécessaires à l'expression de cet état, qui favorise la récupération après le stress.

II. Organisation hiérarchique des comportements défensifs et états cerveau-corps selon l'imminence de la menace

Dans des situations menaçantes, les organismes adoptent une variété de comportements défensifs pour survivre. Ces réponses sont souvent hiérarchisées en fonction de l'intensité de la menace, allant de phénomènes anxieux comme l'évaluation du risque à des réponses de panique immédiates (Mobbs et al. 2020). Cependant, en expérimentation animale, peu de protocoles permettent d'étudier l'ensemble des comportements de peur au sein d'une même tâche. Cette limitation néglige l'ensemble des comportements exprimés par les rongeurs dans une situation à risque et réduit la pertinence des modèles pour comprendre les troubles anxieux et les pathologies liées à la peur. Dans cette perspective, notre nouvelle tâche expérimentale, en intégrant explicitement la dimension de la distance à la menace, permet une approche plus écologique et une meilleure caractérisation des dynamiques comportementales et neuronales sous-jacentes. Cette approche nous a permis dans un premier temps d'étudier dans quelle mesure les dimensions spatiales et temporelle modifient ces comportements mais également dans un deuxième temps de confirmer leur nature à l'aide d'agents pharmacologiques utilisés dans des troubles liés à la peur (anxiété, panique,...).

Nos résultats ont révélé que les comportements défensifs et les états cerveau-corps exprimés dans le U-Maze sont hiérarchiquement organisés en fonction de la proximité spatiale à la menace. En dehors de l'identification des deux types d'immobilité, d'autres comportements classiquement rapportés dans des tâches aversives ont été observés hiérarchiquement

organisées selon leur distance à la menace, comme le thigmotactisme (propension à longer les murs), l'évaluation du risque et le grooming (toilette). Une analyse comportementale multidimensionnelle a permis de regrouper les réponses défensives en trois dimensions principales : l'expression de la peur, la mémoire d'évitement et l'anxiété. Les souris exprimant un état de faible activation montraient des stratégies comportementales favorisant une mémoire d'évitement plus précise. Par ailleurs, des expériences pharmacologiques utilisant des anxiolytiques comme le diazépam ont permis de confirmer que ces comportements et états étaient associés à des troubles présents chez l'Homme comme l'anxiété et la panique.

Ces résultats offrent une perspective novatrice sur la hiérarchisation et les relations des comportements défensifs en fonction de l'intensité de la menace chez un même individu, dans un même tâche. La capacité du U-Maze à étudier efficacement les réponses à différentes intensités de menace, ainsi que leur sensibilité pharmacologique en fait un outil précieux pour explorer les mécanismes sous-jacents aux comportements défensifs et à la régulation émotionnelle. Ces travaux établissent également des bases solides pour développer des interventions pharmacologiques ciblées, adaptées aux différents stades de la réponse à la menace.

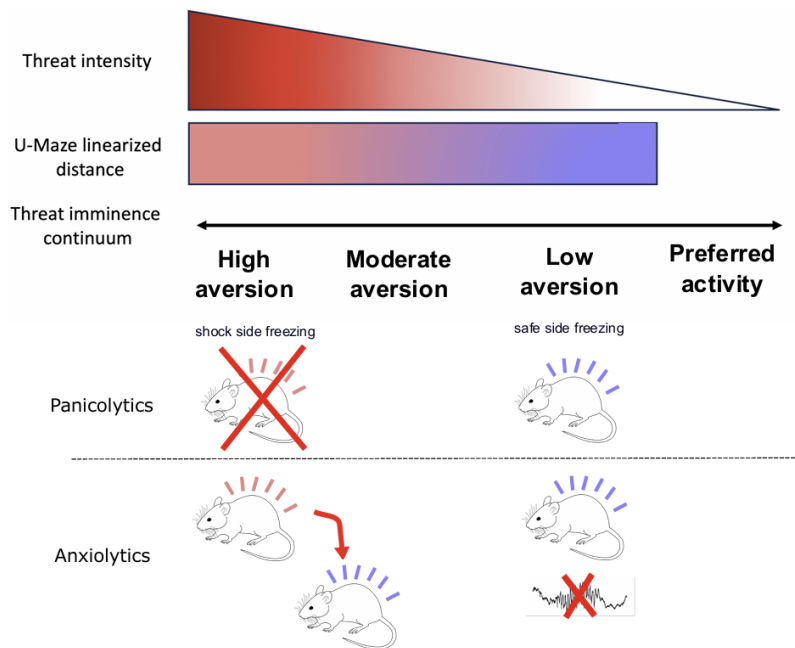


Figure 2 : Résumé graphique – organisation et sensibilité des comportements de défense. Les stratégies défensives et les états associés à des situations menaçantes sont organisés le long de la dimension reflétant la distance à la menace. En rose l'immobilité lié à la panique, en bleu celle liée à la récupération. Un panicolytique comme la fluoxétine chronique empêche l'expression de l'immobilité à proximité du danger alors qu'un

anxiolytique comme le diazépam favorise l'expression de la récupération.

III. Le bulbe olfactif comme fenêtre sur les états de vigilance et l'attention chez les mammifères

Le bulbe olfactif, bien qu'historiquement associé au traitement des informations olfactives, joue également un rôle essentiel dans d'autres domaines des neurosciences. Des travaux récents ont révélé son rôle central dans la transmission du rythme respiratoire vers le cortex, ce qui permet notamment de réguler l'état de peur (Bagur et al., 2021), mais aussi qu'elle permet de discriminer précisément les états de vigilance, tels que l'éveil et le sommeil, chez la souris (Bagur et al. 2018) . Ces propriétés peuvent être liées à sa forte innervation par des structures

neuromodulatrices et sa capacité à générer des potentiels de champs importante. Cette capacité à différencier les états de vigilance uniquement à partir de l'activité cérébrale constitue une avancée significative, permettant de s'affranchir des marqueurs comportementaux et somatiques pour les définir uniquement à partir d'activité cérébrale. Cependant, le potentiel translationnel de ces découvertes reste encore à explorer, en particulier leur applicabilité à d'autres espèces et leur pertinence clinique, mettant en évidence la nécessité de recherches supplémentaires dans ce domaine prometteur.

Nos analyses ont révélé que les oscillations gamma du bulbe olfactif permettaient de différencier l'éveil et le sommeil, non seulement chez le rongeur, mais aussi chez le furet, ce qui suggère que ce mécanisme est présent chez l'Homme au vu de l'organisation phylogénétique de ces espèces. Par ailleurs, nous avons démontré que les oscillations liées à la respiration du bulbe olfactif pouvaient différencier deux types de sommeil à ondes lentes. Enfin, nous avons pu également montrer que pendant une tâche en tête fixée, les oscillations gamma du bulbe olfactif reflétaient globalement le diamètre pupillaire, en faisant un marqueur potentiel pour refléter le niveau de neuromodulation ou attentionnel.

Ces résultats soulignent l'importance des oscillations du bulbe olfactif comme outils polyvalents pour étudier à la fois les états de vigilance et attentionnels. Leur capacité à potentiellement refléter la neuromodulation cholinergique offre des perspectives intéressantes pour ajuster des résultats comportementaux ou électrophysiologiques en laboratoire. De plus, l'application de ces marqueurs à une autre espèce, le furet, met en avant leur potentiel pour des études cliniques et pour la conservation de mécanismes oscillatoires chez les mammifères. En conclusion, ces travaux soulignent la pertinence des oscillations du bulbe olfactif en tant que marqueurs reflétant les interactions avec l'environnement extérieur ou les processus cognitifs internes.

Références bibliographiques :

- Bagur, Sophie, Marie Masako Lacroix, Gaëtan de Lavilléon, Julie M. Lefort, Hélène Geoffroy, and Karim Benchenane. 2018. 'Harnessing Olfactory Bulb Oscillations to Perform Fully Brain-Based Sleep-Scoring and Real-Time Monitoring of Anaesthesia Depth'. *PLoS biology* 16(11): e2005458. doi:10.1371/journal.pbio.2005458.
- Bagur, Sophie, Julie M. Lefort, Marie M. Lacroix, Gaëtan De Lavilléon, Cyril Herry, Mathilde Chouvaeff, Clara Billand, Hélène Geoffroy, and Karim Benchenane. 2021. 'Breathing-Driven Prefrontal Oscillations Regulate Maintenance of Conditioned-Fear Evoked Freezing Independently of Initiation'. *Nature Communications* 12(1): 2605. doi:10.1038/s41467-021-22798-6.
- De Sousa Abreu, Raquel P., Ann N. Hoffman, Evgeny Bondarenko, Yuqing Huang, Rosanna E. Burgos Pujols, Michael S. Fanselow, and Jack L. Feldman. 2024. 'Episodic Slow Breathing in Mice Markedly Reduces Fear Responses'. doi:10.1101/2024.12.09.627565.
- Mobbs, Dean, Drew B. Headley, Weilun Ding, and Peter Dayan. 2020. 'Space, Time, and Fear: Survival Computations along Defensive Circuits'. *Trends in Cognitive Sciences* 24(3): 228–41. doi:10.1016/j.tics.2019.12.016.
- Wu, Chun-Ting, Daniel Haggerty, Caleb Kemere, and Daoyun Ji. 2017. 'Hippocampal Awake Replay in Fear Memory Retrieval'. *Nature Neuroscience* 20(4): 571–80. doi:10.1038/nrn.4507.