

Université de Montréal

Rôle de la neurotensine dans le phénomène de sensibilisation à la morphine.

par
Karine Lévesque

Département de Sciences biomédicales
Faculté de médecine

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures
en vue de l'obtention du grade de
Maître ès sciences (M.Sc.)
en sciences biomédicales

Décembre, 2004

©Karine Lévesque, 2004



W

4

U58

2006

v. 162

Direction des bibliothèques

AVIS

L'auteur a autorisé l'Université de Montréal à reproduire et diffuser, en totalité ou en partie, par quelque moyen que ce soit et sur quelque support que ce soit, et exclusivement à des fins non lucratives d'enseignement et de recherche, des copies de ce mémoire ou de cette thèse.

L'auteur et les coauteurs le cas échéant conservent la propriété du droit d'auteur et des droits moraux qui protègent ce document. Ni la thèse ou le mémoire, ni des extraits substantiels de ce document, ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans l'autorisation de l'auteur.

Afin de se conformer à la Loi canadienne sur la protection des renseignements personnels, quelques formulaires secondaires, coordonnées ou signatures intégrées au texte ont pu être enlevés de ce document. Bien que cela ait pu affecter la pagination, il n'y a aucun contenu manquant.

NOTICE

The author of this thesis or dissertation has granted a nonexclusive license allowing Université de Montréal to reproduce and publish the document, in part or in whole, and in any format, solely for noncommercial educational and research purposes.

The author and co-authors if applicable retain copyright ownership and moral rights in this document. Neither the whole thesis or dissertation, nor substantial extracts from it, may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

In compliance with the Canadian Privacy Act some supporting forms, contact information or signatures may have been removed from the document. While this may affect the document page count, it does not represent any loss of content from the document.

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé:

Rôle de la neurotensine dans le phénomène de sensibilisation à la morphine.

présenté par:
Karine Lévesque

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Philippe Robaey
.....
Président-rapporteur

Pierre-Paul Rompré
.....
Directeur de recherche

Sandra Boye
.....
Membre du jury

Résumé

L'effet euphorique engendré par les drogues d'abus peut augmenter progressivement suite à une consommation périodique; ce phénomène est appelé sensibilisation. Des études antérieures ont démontré l'implication de la neurotensine dans la sensibilisation aux psychostimulants. L'existence d'une sensibilisation croisée entre l'amphétamine et la morphine a stimulé l'étude du rôle de la neurotensine dans le développement de la sensibilisation comportementale à la morphine. Durant la phase d'entraînement, les rats ont reçu une injection de l'antagoniste aux récepteurs à neurotensine SR-48692, ou son solvant, suivi 30 minutes plus tard d'une injection de morphine sulfate, ou de saline. Chaque rat était ensuite placé dans une enceinte permettant de mesurer les mouvements ambulatoires, verticaux et non-ambulatoires. Une semaine après le dernier jour de la phase d'entraînement (J14), tous les rats ont reçu une injection de morphine et l'activité locomotrice a été mesurée. Les résultats démontrent qu'au Jour 1, le SR-48692 a diminué l'activité locomotrice induite par la morphine. Au Jour 7, la morphine a engendré des mouvements ambulatoires et verticaux supérieurs à ceux mesurés au Jour 1. Cette sensibilisation comportementale à la morphine a été atténuée par le SR-48692. Lors du test de sensibilisation (J14), les rats pré-exposés à la morphine ont montré un niveau d'activité locomotrice beaucoup plus élevé que les rats pré-exposés à la saline; le développement de cette sensibilisation à la morphine a été fortement diminué, voire bloqué, par le SR-48692. Ceci renforce l'hypothèse que la neurotensine endogène participe au développement de la sensibilisation comportementale aux drogues d'abus.

Mots clés: opiacés, SR-48692, locomotion, renforcement, dépendance

Summary

Nearly all drugs of abuse induce a euphoric effect that progressively enhance following chronic and intermittent use; this phenomenon is called sensitization. Previous studies have suggest a role for neurotensin in sensitization to psychostimulants. Since there is cross-sensitization between amphetamine and morphine, we were prompted to investigate the role of endogenous neurotensin in the development of morphine sensitization. During the initial training phase (D1-3-5-7), rats were injected with the neurotensin antagonist SR-48692, or its vehicle, and 30 min later with morphine, or its vehicle. Immediately after the second injection, the ambulatory, vertical and non-ambulatory movements of each rat was measured for 2 h in photocell cages. One week after the training phase (D14), each group of rats received a single injection of morphine and their locomotor activity was assessed for 2 h. The results show that on Day 1 the increase in locomotion induced by morphine was decreased by SR-48692. On Day 7, morphine induced an increase in ambulatory and vertical activity that was stronger than Day 1 and this sensitization effect was attenuated by SR-48692. The sensitization test revealed that rats pre-exposed to morphine alone displayed stronger ambulatory and vertical activity than vehicle pre-treated rats, a sensitization effect attenuated and prevented by SR-48692. This further support the hypothesis that endogenous neurotensin is a major substrate for the development of sensitization to drugs of abuse.

Keywords: opiates, SR-48692, locomotion, reinforcement, addiction

Table des matières

Identification du jury	ii
Résumé	iii
Summary	iv
Table des matières	v
Liste des figures	viii
Listes des abréviations	ix
1. Introduction	1
1.1 Les opiacés	3
1.1.1 Historique	4
1.1.2 Opiacés : Substances actives	5
1.1.3 Effets physiologiques et comportementaux	5
1.2 La toxicomanie	6
1.2.1 Dépendance	6
1.2.2 Consommation de substances illicites	7
1.2.2.1 <i>Initiation de la consommation</i>	8
1.2.2.2 <i>Maintien de la consommation</i>	8
1.2.2.3 <i>Rechute</i>	11
1.3 Mécanisme d'action de la morphine	13
1.3.1 Pénétration de la barrière hémato-encéphalique	14
1.3.2 Récepteurs opiacés; mu, delta, kappa	15
1.3.3 Effets de la morphine sur les voies dopaminergiques	18
1.3.3.1 <i>Actions au niveau de l'aire tegmentaire ventrale</i>	19
1.3.3.1.1 <i>Mécanisme d'action</i>	20

1.3.3.2 <i>Actions au niveau du striatum ventral</i>	22
1.4 Phénomène de sensibilisation comportementale à la morphine	23
1.4.1 Substrats neurobiologiques impliqués dans le développement de la sensibilisation comportementale à la morphine	24
1.4.1.1 <i>Rôle des neurones dopaminergiques</i>	24
1.4.1.2 <i>Rôle des neurones non-dopaminergiques (GABAergiques et glutamatergiques)</i>	26
1.4.2 La neurotensine	27
1.4.2.1 <i>Récepteurs à neurotensine; NT₁, NT₂, NT₃</i>	28
1.4.2.2 <i>Effets de la neurotensine sur le système dopaminergique</i>	29
1.4.2.3 <i>Rôle possible dans le phénomène de sensibilisation à la morphine</i>	33
1.5 Hypothèses	35
2. Article	37
3. Conclusions	70
3.1 Le rôle de la neurotensine dans l'initiation de la sensibilisation comportementale à la morphine	71
3.1.1 L'antagoniste SR-48692 atténue l'activité ambulatoire induite par la morphine	72
3.1.2 L'antagoniste diminue, ou bloque, la sensibilisation comportementale à la morphine	79
3.2 Pertinence de l'étude de la sensibilisation dans le contexte de dépendance aux drogues d'abus	87
3.3 La sensibilisation comportementale aux drogues d'abus chez l'humain, et son rôle dans la rechute	89

4. Sources documentaires93

Liste des figures

- Figure 1. Ambulatory activity (expressed as distance in cm travelled within the activity box) measured over four consecutive 30 min periods on day 1 (top panel) and on day 7 (bottom panel) of the training phase64
- Figure 2. Non-ambulatory activity (expressed as time in sec making movements within a virtual box), measured over four consecutive 30 min periods on day 1 (top panel) and on day 7 (bottom panel) of the training phase65
- Figure 3. Vertical activity (expressed as total photocells counts) measured over four consecutive 30 min periods on day 1 (top panel) and on day 7 (bottom panel) of the training phase66
- Figure 4. Ambulatory activity measured over four consecutive 30 min periods following a single injection of morphine on day 14 (sensitization test)67
- Figure 5. Non-ambulatory activity measured over four consecutive 30 min periods following a single injection of morphine on day 14 (sensitization test)68
- Figure 6. Vertical activity measured over four consecutive 30 min periods following a single injection of morphine on day 14 (sensitization test)69

Liste des abréviations

AMPA : acide α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole proprionic

D₁ : récepteurs dopaminergiques de type 1

D₂ : récepteurs dopaminergiques de type 2

DALA : D-Ala²-Met⁵-enkephalinamide

DSM : diagnostic and statistical manual of mental disorder

GABA : acide gamma-amino-butyrique

i.p. : injection par voie intrapéritonéale

SR-48692 : [2-(1-[7-chloro-4-quinolinyl]-5-[2,6-dimethoxyphenyl]-1H-pyrazol-3-
)carbonylamino-adamantane-2-carboxyl acid]

NMDA : acide N-methyl-D-aspartic

NT₁ : récepteur à neurotensine de type 1

NT₂ : récepteur à neurotensine de type 2

NT₃ : récepteur à neurotensine de type 3

s.c. : injection par voie sous-cutanée

1. Introduction

L'abus de drogue se définit comme "une habitude de consommation inadaptée du point de vue médicale et sociale dans une culture donnée" (DSM-IV; voir Feldman et al., 1997). L'éventail des substances qui présentent un risque d'abus chez l'humain est très large. Les psychostimulants (ex. amphétamines, cocaïne), les opiacés (morphine, héroïne, codéine), les hallucinogènes, les tranquillisants mineurs (famille des benzodiazépines), l'alcool et la nicotine en sont quelques exemples. Selon un rapport émit par les Nations Unies, on comptait en 2001 plus de 185 millions d'individus dans le monde au prise avec un problème de consommation abusive de drogues (World Drug Report, 2004). On reconnaît aujourd'hui que l'abus de drogues constitue un problème de santé important de la société moderne. À titre d'exemple, en 2000, l'usage de substances illicites injectables était l'un des facteurs principaux responsables de la transmission du VIH et de l'hépatite (Hser et al., 2001; World Health Organization, 2003). Les comportements criminels, les coûts en services de santé et judiciaire ainsi que la perte de productivité représentent d'autres conséquences importantes découlant de l'abus de drogues (Fischer et al., 2001; Hser et al., 2001). Une meilleure connaissance des effets à court- et à long-terme de la consommation de drogues illicites sur le comportement et sur la santé « mentale » est certes d'intérêt majeur.

La plupart des drogues d'abus, notamment les psychostimulants et les opiacés, produisent un effet psychomoteur, c'est-à-dire relatif aux effets moteurs de l'activité cérébrale, qui s'atténue ou qui augmente avec la prise répétée. L'atténuation est observée lorsque la consommation est intense et soutenue alors que l'augmentation est observée lorsque la consommation est périodique; ce dernier phénomène est appelé sensibilisation (Stewart & Badiani, 1993). La sensibilisation à l'effet comportemental

d'une substance présente certaines caractéristiques pertinentes au phénomène de dépendance qui résulte de l'usage abusif des substances. Elle joue un rôle par exemple dans la motivation à rechercher et à consommer la substance ainsi que dans le phénomène de rechute que l'on observe après le sevrage. Ce travail de recherche a pour objectif de mieux comprendre la neurobiologie du développement de la sensibilisation aux drogues d'abus, un domaine qui demeure encore mal connu. Il vise plus précisément à déterminer le rôle de la neurotensine, un neuropeptide endogène, dans le développement de la sensibilisation comportementale à la morphine.

Dans les sections suivantes, je présenterai un bref historique de la découverte et de l'utilisation des opiacés, pour ensuite aborder le thème général de la dépendance. Je discuterai des mécanismes d'action de la morphine dans le système nerveux central, et du phénomène de sensibilisation comportementale qui résulte de la prise répétée de morphine. Enfin, je passerai en revue l'état des connaissances sur la neurobiologie du développement de la sensibilisation comportementale à la morphine et sur le rôle de la neurotensine endogène dans ce phénomène.

1.1 Les opiacés

Dans cette première section intitulée "Les opiacés", plusieurs thèmes seront abordés afin de familiariser le lecteur avec certaines caractéristiques pertinentes de ces drogues d'abus. Un bref historique sur l'utilisation des opiacés sera d'abord présenté. Par la suite, les substances actives contenues dans l'opium et les effets physiologiques et comportementaux de la consommation d'opiacés seront exposés.

1.1.1 Historique

Originnaire de l'Asie mineure, l'opium est le suc contenu dans les capsules de la plante de pavot (*Papaver somniferum*). L'opium est extrait de la plante en pratiquant à la surface de la capsule (non mature) une incision qui permet l'écoulement du latex, riche en agents biologiquement actifs (alcaloïdes). Malgré le fait que la culture du pavot remonte à aussi loin que trois millénaires av. J.-C., ce n'est qu'en 1803 qu'un chercheur allemand du nom de Frederick Sertürner a découvert l'ingrédient actif de l'opium. Sertürner appela morphium la substance blanchâtre (le latex) en référence au Dieu grec des rêves, Morpheus. La morphine représente 10% du poids total de l'opium; le deuxième ingrédient actif en importance est la codéine qui compte pour seulement 0.05% (voir Feldman et al., 1997). C'est en 1830 que la morphine est devenue un produit manufacturé, vendu commercialement. En 1914, le "Harrison Act Banned" interdit désormais l'usage de morphine aux États-Unis pour des raisons évidentes, soient l'usage abusif et le phénomène de dépendance qui en résulte. Un peu plus de 60 ans plus tard, l'inventeur de l'aspirine, Heinrich Dreser, synthétisa l'héroïne; la croyant sans risque pour la santé, il l'a commercialisa par l'entremise de la compagnie pharmaceutique Bayer. Dreser la nomma ainsi afin de souligner la puissance de cette nouvelle substance synthétique, en allemand "heroish" signifie héroïque. Résultant de l'addition de deux groupes acétyles à la molécule de morphine, l'héroïne est en effet dix fois plus liposoluble que la morphine; ceci a pour conséquence que l'héroïne pénètre dans le cerveau beaucoup plus facilement, donc en plus grande concentration que la morphine. Suite à son utilisation de plus en plus répandue et excessive, il devint évident que

l'héroïne pouvait, comme la morphine et l'opium, engendrer un état de dépendance chez les consommateurs abusifs; elle fut donc interdite aux États-Unis en 1924.

1.1.2 Opiacés : Substances actives

L'opium est composé d'environ 25 alcaloïdes actifs. Ceux-ci constituent 25% du poids de l'opium. On y retrouve de la morphine (2 à 21%), de la noscapine (4 à 6%), de la papavérine (0.05 à 1.2%), de la codéine (0.05 à 6%) et de la thébaïne (0.02 à 1.4%) (Feldman et al., 1997; Léonard & Vallée, 2002). Étudiées pour leurs propriétés analgésiques et psychotropes, la morphine et la codéine sont de loin les alcaloïdes les mieux connus. Divers effets physiologiques ont aussi été découverts chez d'autres agents actifs contenus dans l'opium. Par exemple, la noscapine (ou narcotine) est un antitussif alors que la papavérine est mieux connue pour ses vertus de relaxation musculaire. Étant donné la puissance de leur effet analgésique, la morphine et la codéine demeurent les opiacés les plus couramment utilisés en médecine (Feldman et al., 1997).

1.1.3 Effets physiologiques et comportementaux

Les opiacés font partie de la famille des narcotiques, c'est-à-dire qu'ils agissent sur le cerveau pour induire un état de somnolence et de torpeur chez l'individu. En générale, le consommateur ne réagit plus aux stimuli externes ni internes, il est dans un état d'apaisement et d'euphorie paisible. Par leur action au niveau du système nerveux central, les opiacés provoquent une diminution de la respiration, une perte des sensations

de douleur, de la nausée ainsi que de la sédation. Évidemment, l'intensité, voire la présence, de ces effets physiologiques et comportementaux varient selon l'individu et la dose consommée.

1.2 La toxicomanie

Avant d'élaborer davantage sur le système opiacé, il convient de discuter à ce moment-ci du phénomène de la dépendance aux drogues d'abus. Dans un premier temps, des définitions sur la dépendance et ces différents aspects seront proposées. Dans un deuxième temps, j'exposerai les différentes étapes de la consommation de substances illicites ainsi que les concepts qui ont été proposés afin d'expliquer et de faciliter l'étude de ce comportement anormal.

1.2.1 Dépendance

La dépendance se définit comme un trouble comportemental de rechutes chroniques, causé par l'utilisation intense et/ou répétée et souvent prolongée de substances psychoactives. Elle est caractérisée par 1) le maintien de la consommation en dépit de problèmes physique et mental, 2) un désir incessant de consommer la substance, 3) la difficulté à limiter l'usage de la substance, 4) le délaissement des autres activités et intérêts en faveur de la recherche et de la prise de drogue, 5) l'augmentation de la tolérance et, parfois, 6) par un syndrome de sevrage si l'usage cesse abruptement (World Health Organization, 2003).

Il est possible de distinguer deux types de dépendance. La dépendance physiologique correspond à l'état adaptatif atteint par un organisme en présence constante d'une drogue. Une réduction ou un arrêt brutal de la consommation bouleverse donc le nouvel équilibre interne de l'organisme ce qui se traduit par l'apparition de symptômes d'ordre physique intenses (ou syndrome de sevrage) (Ben Amar & Léonard, 2002). Par exemple, un individu en manque d'opiacés est susceptible de souffrir d'hypersensibilité à la douleur, de tremblements, d'insomnie et de diarrhée (Feldman et al., 1997). Le deuxième type est la dépendance dite psychologique. Cette dépendance, qui apparaît également lors d'une réduction ou un arrêt de la consommation, se caractérise par l'apparition de changements (symptômes) psychologiques. Ceux-ci consistent principalement en un état de détresses émotionnelle et mentale reliées aux effets de la drogue et par un besoin intense et persistant à reprendre de la drogue (Ben Amar & Léonard, 2002). Chez l'individu en manque d'opiacés, les symptômes psychologiques consistent principalement en de la dysphorie, de l'irritabilité et un état de dépression (Feldman et al., 1997).

1.2.2 Consommation de substances illicites

Différentes étapes surviennent lors de la consommation de substances illicites. Cette section vise à bien définir les caractéristiques propres à l'initiation, au maintien ainsi qu'à la rechute de la prise de drogues. Pour ce faire, les principaux facteurs et/ou concepts qui entrent en jeu lors de ces différentes étapes seront discutés. De plus, des exemples d'études faites chez l'animal seront présentés afin d'illustrer de manière plus concrète ces notions.

1.2.2.1 Initiation de la consommation

Les raisons qui peuvent conduire un individu à consommer de la drogue pour la première fois sont diverses. L'envie d'expérimenter de nouvelles sensations, la curiosité, ou encore l'encouragement et la pression exercés par les pairs, sont autant de motifs pouvant mener à l'initiation de la consommation de substances illicites. Bien que la plupart des gens expérimentent des drogues au cours de leur vie sans développer de dépendance ni de problèmes de santé liés à cette consommation, un certain nombre s'engage dans le cycle de la dépendance. Plusieurs facteurs influencent cette transition d'un usage récréatif vers un de dépendance. La drogue en soi, la voie d'administration, la disponibilité de la drogue, l'hérédité de l'individu et l'expérience de la consommation d'autres drogues sont autant de facteurs qui peuvent favoriser ou non une consommation abusive menant à la dépendance (Koob & LeMoal, 1997; Ahmed & Koob, 1998; Van Ree et al., 1999; Ahmed et al., 2000; Koob & LeMoal, 2001; Ben-Shahar et al., 2004).

1.2.2.2 Maintien de la consommation

Le maintien de la consommation peut s'expliquer, en partie, à l'aide de certains concepts appartenant aux théories d'apprentissage telle que la réponse conditionnée et le renforcement. La théorie du conditionnement opérant (Skinnérien) propose les concepts de renforcement et de punition pour expliquer le comportement. Selon B.F. Skinner, un renforcement est un stimulus qui augmente la probabilité d'apparition d'une réponse; la punition a la conséquence inverse, elle diminue la probabilité d'apparition d'une

réponse. Un animal placé dans une enceinte de test où se trouve un levier apprendra rapidement à appuyer sur le levier si cette action a pour conséquence de rendre disponible de la nourriture. La nourriture constitue donc un renforcement positif puisqu'elle augmente la probabilité d'émission d'une action : appui sur le levier. Deux types de renforcements peuvent être différenciés, le renforcement dit « positif » et le renforcement dit « négatif ». Les deux augmentent la probabilité d'apparition d'une réponse. Dans le cas du renforcement positif, la réponse a pour conséquence une récompense. Dans le cas du renforcement négatif, la réponse est émise en conséquence du retrait d'un stimulus d'aversion. Des expériences faites chez l'animal ont permis de démontrer que les opiacés produisent ces deux effets. Il est en effet facile d'entraîner un animal à produire une réponse pour obtenir une injection intraveineuse, ou intracérébrale, de morphine. La drogue agit donc comme une récompense, ou renforcement positif. Si l'animal rendu dépendant à la morphine (après une séquence d'auto-administration répétée) produit une réponse pour obtenir de la morphine, on peut inférer qu'il s'agit dans ce cas d'une action qui a pour but d'éviter les effets négatifs du sevrage; la morphine agit donc comme un renforcement négatif (Feldman et al., 1997; Xi & Stein, 1999; De Vries & Shippenberg, 2002).

Les effets de récompense et d'aversion engendrés par les opiacés peuvent être mis en évidence par la théorie de Pavlov sur le conditionnement classique. Cette théorie propose plusieurs notions pour expliquer le comportement dont la réponse conditionnée, la réponse inconditionnée, le stimulus conditionné et le stimulus inconditionné. Prenons l'exemple de l'expérience classique de Pavlov : un chien qui salive lorsqu'on lui présente de la nourriture. La salivation est une réponse inconditionnée, ou réflexe

comportemental, qui est déclenché par un stimulus inconditionné, la nourriture. Pavlov a montré que si l'on fait régulièrement entendre à un chien le son d'une cloche (stimulus conditionné) juste avant la présentation du stimulus inconditionné, le chien se mettra éventuellement à saliver lorsqu'il entend le son d'une cloche en absence de nourriture; c'est la réponse dite conditionnée. Cette expérience illustre bien l'influence de l'environnement sur le comportement. Son application à l'étude de la consommation des drogues est illustrée par l'expérience suivante. On utilise d'abord une enceinte de test qui comprend trois compartiments. Un compartiment gauche de couleur foncé, un compartiment droit de couleur claire et un compartiment central neutre. On administre à l'animal de la morphine puis on le confine dans le compartiment de droite. Le jour suivant, on lui administre un placebo et on le confine au compartiment de gauche. Cette séquence est répétée à quelques reprises. Le jour après la dernière injection, l'animal est placé dans le compartiment central (sans injection au préalable) où il a accès aux compartiments de gauche et de droite; on mesure alors le temps qu'il passe dans l'un ou l'autre des compartiments. Les expériences passées ont montré sans équivoque que l'animal passe beaucoup plus de temps dans le compartiment dans lequel il était confiné après l'injection de morphine (Bozarth, 1987; Wise, 1989). On infère alors que la morphine a induit un conditionnement de préférence (conditioned place preference). Les indices environnementaux associés à la morphine lors de la phase de conditionnement sont devenus des stimuli conditionnés qui déclenchent une réponse conditionnée (préférence pour le compartiment associé à la morphine). Par opposition au conditionnement de préférence, le conditionnement d'aversion consiste en l'association entre des stimuli (environnementaux) et un état désagréable; l'état de sevrage aux opiacés par exemple. Caillé et ses collègues (1999) ont ainsi observé que

les rats dépendants évitent l'environnement préalablement associé à un état de manque à la morphine. Parallèlement, cette étude rapporte la présence de plusieurs signes physiques du sevrage comme les tremblements, la diarrhée et la perte de poids, ce qui constituent une réponse conditionnée.

En résumé, le plaisir (ou récompense) engendré par la consommation d'opiacés agit comme un renforcement positif tandis que le soulagement des symptômes de sevrage par la prise de drogue agit comme un renforcement négatif. Le consommateur est donc coincé dans une boucle comportementale qui l'incite ou le motive fortement à maintenir sa consommation (Di Chiara & North, 1992; Koob & Le Moal, 1997; Weiss et al., 2001).

1.2.2.3 Rechute

La dépendance se caractérise aussi par un risque élevé de rechute, c'est-à-dire que l'individu est fortement susceptible de reprendre de la drogue même après des mois, voire des années, d'abstinence (O'Brien, 1997). Hser et ses collègues (2001) qui ont suivi le parcours de 581 héroïnomanes sur plus de trois décennies ont observé que moins de la moitié (46.7%) des sujets ont arrêté de consommer pendant plus de 5 ans. Les résultats démontrent que même si ces 5 années d'abstinence réduisent considérablement le risque de rechute, 1/4 des volontaires ont malgré tout recommencé à consommer de l'héroïne et ce, même après plus de 15 ans d'arrêt. Cette étude démontre bien l'incidence élevée de la rechute chez les consommateurs d'héroïne.

Deux facteurs importants semblent impliqués dans la rechute soient le contexte de la prise de drogue (conditionnement classique) et les situations stressantes. Selon le modèle de conditionnement classique, tous les stimuli présents (personnes, objets, odeurs...etc.) lors de la prise de drogue peuvent ultérieurement agir sur l'individu en faveur de la consommation (O'Brien, 1997; Weiss et al., 2001). En effet, l'individu pourrait avoir un désir incontrôlable de consommer, et même ressentir des effets similaires à ceux engendrés par la drogue (réponse conditionnée), s'il entre en contact avec ces stimuli environnementaux (Koob, 2000; Hyman & Malenka, 2001). Gracy et ses collègues (2000) l'ont bien démontré par l'expérience suivante. Un groupe de rats a appris à s'auto-administrer de l'héroïne en présence de stimuli environnementaux (son et lumière). Un second groupe de rats reçoit un placebo et celui-ci est associée à d'autres stimuli environnementaux. Une fois que les rats du premier groupe maintiennent leur comportement d'auto-administration, la saline est substituée à l'héroïne et les stimuli environnementaux ne sont plus présentés. C'est la phase dite d'extinction, les rats cessent de répondre. Une fois cette phase d'extinction bien établie, les deux groupes de rats sont ré-exposés à leurs stimuli environnementaux respectifs. Les résultats démontrent que seuls les rats qui ont appris à s'auto-administrer l'héroïne recommencent à produire une réponse opérante; ce phénomène de rechute a été observé jusqu'à 11 semaines suivant l'arrêt de la consommation de drogue. L'exposition au contexte de consommation semble donc être un important facteur de risque pour la rechute puisque les stimuli présents déclenchent, même à très long terme, le besoin de consommer (Lu et al., 2002; Shalev et al., 2002; Crombag & Shaham, 2002).

Les situations stressantes peuvent également provoquer la rechute chez les individus vulnérables. Plusieurs études animales tentent de modéliser ce phénomène en laboratoire et d'en découvrir les substrats neurobiologiques. Dans la majorité de ces expériences, une exposition forcée à des stimuli ou situations normalement évités par l'animal rétablit efficacement la prise de drogue (Piazza & Le Moal, 1998). Lors d'une procédure standard, l'animal est entraîné à s'auto-administrer de l'héroïne. Dès que ce comportement est maintenu, on débute la phase d'extinction c'est-à-dire que la drogue est remplacée par un placebo. Quelques jours après la disparition du comportement opérant, l'animal est exposé à un stimulus stressant. Par exemple, de faibles décharges électriques sont transmises sur le plancher de la cage de test dans laquelle il s'était auparavant auto-administré de l'héroïne; ce stress déclenche la reprise du comportement opérant. D'autres protocoles sont aussi employés tels que l'induction pharmacologique de la réponse au stress, la privation de nourriture, la contention physique ainsi que l'isolation sociale (Shaham et al., 1996; Piazza & LeMoal, 1998; Shaham et al., 2000; Shalev et al., 2000; Lu et al., 2003). Selon ces études, un individu vulnérable qui fait face à un stress est fortement susceptible de reprendre ces habitudes de consommation, donc de faire une rechute.

1.3 Mécanisme d'action de la morphine

Cette section a pour but d'identifier comment et où la morphine agit dans le système nerveux central. La discussion portera ici sur son arrivée au cerveau, sur les différents types de récepteurs opiacés et leurs rôles distinctifs dans les effets physiologiques de la morphine. De plus, l'action de la morphine sur les voies

dopaminergiques sera abordée plus en détails en raison des évidences empiriques suggérant leur implication dans ces propriétés de renforcement positif.

1.3.1 Pénétration de la barrière hémato-encéphalique

La structure chimique d'une molécule détermine la facilité avec laquelle elle peut pénétrer la barrière hémato-encéphalique qui sépare le système nerveux central du système sanguin. Cette barrière sert principalement à maintenir constante la composition chimique des fluides extracellulaires afin de préserver le bon fonctionnement du système nerveux. Parce qu'elle ne permet pas le passage de toutes les molécules, on dit que la barrière hémato-encéphalique a une perméabilité sélective. Suite à son absorption dans le sang, la morphine ne traverse pas facilement cette barrière qui est principalement constituée de lipides. Ceci s'explique par la structure chimique de la morphine qui est polaire et, par conséquent, peu liposoluble. En comparaison, l'héroïne est moins polaire et plus soluble dans les lipides que la morphine. Ceci s'explique par la présence de deux groupes acétyles supplémentaires, greffés à la molécule de morphine. L'héroïne (ou diacétylmorphine) traverse donc aisément la barrière lipidique et parvient plus rapidement et en plus grande concentration au cerveau que la morphine. Suite à la pénétration dans le système nerveux central, les effets physiologiques de l'héroïne sont toutefois identiques à ceux de la morphine puisque l'héroïne est transformée en morphine (les deux groupes acétyles se séparent de la molécule). En effet, dès la barrière hémato-encéphalique franchie, l'héroïne est transformée en un métabolite, appelé 6-monoacétylmorphine (6-MAM) (Selley et al.,

2001). Ce métabolite primaire subit lui-aussi des modifications dont le résultat final est la formation de morphine (Selley et al., 2001).

1.3.2 Récepteurs opiacés; mu, delta, kappa

L'existence des récepteurs opiacés fut démontrée au début des années '70 par Pert et Snyder, grâce à la méthode de liaisons par radioligand (Pert & Snyder, 1973).

D'autres observations, basées sur des courbes doses-réponses et des interactions agoniste-antagoniste, amenèrent Martin (1976) et ses collègues à émettre l'hypothèse qu'il y aurait plus d'un types de récepteurs opiacés. Des études pharmacologiques subséquentes confirmèrent cette hypothèse. L'un des types de récepteur opiacé fut nommé mu (μ) parce qu'il présente une haute affinité pour la morphine. Un second type de récepteur opiacé fut appelé kappa (κ) à cause de son affinité élevée pour la kétocyclazocine, un analogue de la morphine. Enfin, un dernier type de récepteur qui est en forte densité dans le *vas deferens*, fut nommé delta (δ) (Snyder & Pasternak, 2003).

Il est aujourd'hui démontré que ces trois principaux types de récepteurs opiacés possèdent sept segments transmembranaires et font partie de la grande classe des récepteurs couplés aux protéines G (Di Chiara & North, 1992; Williams et al., 2001; Sora et al., 2001). Grâce au développement de techniques en biologie moléculaire, il a été possible de cloner les récepteurs opiacés dès le début des années '90. Ceci permit, entre autres, de confirmer l'exactitude des découvertes antérieures et de contribuer à l'avancement des connaissances concernant les fonctions de ces trois types de récepteurs (μ , δ , κ) grâce à des manipulations génétiques effectuées chez les rongeurs.

Au niveau du système nerveux central, les récepteurs opiacés sont présents dans plusieurs régions probablement impliquées dans la dépendance psychologique aux opiacés telles que la substance noire, l'hippocampe, l'amygdale, l'aire tegmentaire ventrale, le noyau accumbens et le cortex pré-frontal (Mansour et al., 1995; Feldman et al., 1997; Narita et al., 2001; Léonard & Vallée, 2002). Contrairement aux types delta et kappa, le récepteur opiacé de type μ est localisé dans toutes ces régions (Di Chiara & North, 1992; Negus et al., 1993; Levinthal, 1996; Kieffer, 2000). Précisons que la morphine va aussi interagir avec les deux autres types de récepteurs opiacés, delta et kappa, pour produire certains effets physiologiques mais à des doses élevées; ceci est attribuable à son affinité moindre pour ces récepteurs (Van Ree et al., 1999; Kieffer, 2000; Narita et al., 2001; De Vries & Shippenberg, 2002).

Comme mentionné ci-dessus, les récepteurs opiacés de type μ possèdent la plus forte affinité envers la morphine, on dit alors qu'ils sont sa première cible moléculaire (Di Chiara & North, 1992; Kieffer, 2000). Grâce au développement d'agonistes sélectifs aux récepteurs μ , il est possible d'étudier les effets physiologiques et comportementaux spécifiques à l'activation de ce type de récepteur opiacé. C'est ainsi qu'une multitude d'études pharmacologiques ont démontré l'implication majeure de ces récepteurs dans plusieurs effets bien connus de la morphine tels que l'analgésie, la dépression respiratoire, la locomotion, le renforcement positif (auto-administration) et la récompense (conditionnement classique) (Di Chiara & North, 1992; Negus et al., 1993; Feldman et al., 1997; Van Ree et al., 1999; Léonard & Vallée, 2002). En accord avec

ces données, il a été observé que chez les souris génétiquement modifiées afin que leur génome n'exprime pas les récepteurs de type μ , l'administration de morphine induit seulement peu d'effets. Effectivement, les résultats démontrent qu'il y a absence d'analgésie, de renforcement positif, de locomotion, de syndrome de sevrage et de tolérance aux effets de la morphine (Matthes et al., 1996; Becker et al., 2000; Narita et al., 2001; Koob & Le Moal, 2001; Sora et al., 2001; Bodnar & Hadjimarkou, 2002; Contarino et al., 2002). De façon générale, ces données pharmacologiques et génétiques suggèrent fortement que l'activation des récepteurs opiacés de type μ soit impliquée dans le phénomène de dépendance psychologique aux opiacés.

À fortes doses, la morphine active alors aussi les récepteurs opiacés de types delta et kappa. D'une part, une panoplie d'études rapportent que le type delta participe à plusieurs effets de la morphine telles que l'analgésie, la stimulation motrice (locomotion) et le renforcement positif (Longoni et al., 1991; Negus et al., 1993; Kalivas, 1993; Van Ree et al., 1999; Narita et al., 2001). Par ailleurs, chez la souris dont le génome n'exprime pas de récepteur delta, il n'y a pas de tolérance aux effets de la morphine mais les signes de la dépendance et du renforcement positif exercés par les opiacés sont toujours présents. Ces résultats suggèrent que les récepteurs delta jouent aussi un rôle dans les effets de récompense des opiacés. D'autre part, les récepteurs de type kappa semblent responsables des effets négatifs de la morphine comme la dépression des réflexes moteurs, la dysphorie ainsi que la sédation (Van Ree et al., 1999; Léonard & Vallée, 2002). À l'inverse des récepteurs delta, les récepteurs opiacés de type kappa s'opposent à plusieurs actions initiées par l'activation des récepteurs mu dont

l'analgésie, la tolérance, la récompense et l'état affectif euphorique (Pan, 1998; Todtenkopf et al., 2004). Par exemple, l'administration d'un agoniste des récepteurs kappa avant l'exposition à un environnement provoque ultérieurement la fuite de ce lieu par l'animal. Ce comportement indique que les effets de l'activation des récepteurs kappa sont négatifs (Narita et al, 2001). Il est bien connu que chez la souris l'exposition à la morphine engendre un comportement d'approche envers l'environnement associé à ses effets, c'est le conditionnement classique de préférence vu précédemment. Par contre, si la souris reçoit une co-injection de l'agoniste aux récepteurs kappa et de morphine, il n'y a pas développement d'un conditionnement classique de préférence. Il semble donc que l'activation des récepteurs kappa bloque la récompense normalement induite par la morphine (Tsuji et al., 2001). Tous ces résultats indiquent que les récepteurs opiacés de type kappa jouent un rôle dans le renforcement négatif, et s'opposent à la récompense, engendrés par les opiacés.

1.3.3 Effets de la morphine sur les voies dopaminergiques

La région ventrale du mésencéphale contient le plus vaste groupement de corps cellulaires de neurones utilisant la dopamine comme neurotransmetteur (Björklund & Lindvall, 1984). Ces regroupements ont été subdivisés en deux groupes selon leurs voies de projections. Le groupe libellé A9 comprend des neurones dopaminergiques localisés dans la substance noire et qui envoient des projections axonales dans le striatum; cette voie se nomme nigrostriatale. Le second groupe de cellules à dopamine est localisé dans l'aire tegmentaire ventrale, identifiée A10, et envoie des projections dans certaines régions limbiques telles que le noyau accumbens, l'amygdale, le septum et

le cortex préfrontal; on appelle cette voie mésocorticolimbique (Swanson, 1982). Plusieurs évidences empiriques suggèrent que le système dopaminergique mésocorticolimbique joue un rôle majeur dans la récompense aux drogues d'abus (Wise & Rompré, 1989; Koob 1992).

1.3.3.1 Actions au niveau de l'aire tegmentaire ventrale

Les opiacés, comme les amphétamines et la cocaïne, stimulent la neurotransmission dopaminergique et causent une augmentation du niveau de dopamine extracellulaire dans les régions de projection du système mésocorticolimbique (Gysling & Wang, 1983). Des études d'électrophysiologie et de microdialyse *in vivo* ont démontré, respectivement, que l'administration de morphine élève la fréquence de décharge des neurones dopaminergiques de l'aire tegmentaire ventrale (Matthews & German, 1984; Narita et al, 2001; Johnson & North, 1992) et favorise la libération de ce neurotransmetteur dans les régions corticales, striatales et limbiques (Gysling & Wang, 1983; Kalivas & Stewart, 1991; Spaganel et al., 1991; Vezina et al., 1992; Chefer et al., 2003). Tous ces effets de la morphine peuvent être annulés par l'administration d'antagonistes aux récepteurs μ , comme la naloxone et la naltrexone. Ceci confirme que la morphine agit sur les voies dopaminergiques de l'aire tegmentaire ventrale en activant les récepteurs opiacés de type μ .

Du point de vue comportementale, il est bien établi que l'application de morphine directement dans l'aire tegmentaire ventrale engendre une hyperactivité locomotrice

chez le rat et que cet effet est dépendant d'une augmentation de la neurotransmission dopaminergique. Les rats apprennent aussi très rapidement à s'auto-administrer des agonistes sélectifs aux récepteurs μ et ce, directement dans l'aire tegmentaire ventrale (Bozarth & Wise, 1986; Devine & Wise, 1994; Kiyatkin & Rebec, 2001). Ce comportement indique que l'activation de ces récepteurs dans cette région est une action pertinente dans le phénomène de renforcement positif induit par les opiacés. De plus, cet effet semble limité à cette région du mésencéphale ventrale, puisqu'il n'y a pas acquisition du comportement d'auto-administration lorsque la morphine est injectée dans un site où il n'y a pas de cellules à dopamine (Phillips & LePiane, 1982; Bozarth & Wise, 1982; Bozarth, 1987; Wise, 1989). Les cellules à dopamine dans l'aire tegmentaire ventrale constitue donc un élément important du substrat nerveux responsable de l'effet de renforcement positif exercé par les opiacés (Kiyatkin & Rebec, 2001). Cette hypothèse est appuyée par les résultats montrant que des lésions sélectives des neurones à dopamine dans cette région inhibent l'auto-administration de morphine (Bozarth & Wise, 1986).

1.3.3.1.1 Mécanismes d'action

Les études électrophysiologiques, anatomiques et neurochimiques ont permis de caractériser deux types de neurones dans l'aire tegmentaire ventrale, des neurones dopaminergiques et des neurones non-dopaminergiques. Certains des neurones non-dopaminergiques sont des interneurones GABAergiques qui exercent une action inhibitrice sur les neurones dopaminergiques (Johnson & North, 1992; Kalivas, 1993;

Steffensen et al., 1998). Plusieurs études ont confirmé la présence de récepteurs opiacés de type μ dans l'aire tegmentaire ventrale (Svingos et al, 2001; Garzon & Pickel, 2002). Puisque la destruction des neurones à dopamine ne diminue pas le nombre de ces récepteurs opiacés (Dilts & Kalivas, 1989) et que ceux-ci ont été localisés sur des dendrites et des terminaisons axonales qui ne contiennent pas de tyrosine hydroxylase (enzyme nécessaire à la synthèse des catécholamines) (Garzon & Pickel, 2002), on a conclu que certains des récepteurs μ sont localisés sur des interneurons GABAergiques. Cette conclusion est appuyée par des résultats montrant que la morphine inhibe l'activité des neurones non-dopaminergiques et augmente celle des neurones dopaminergiques (Gysling & Wang, 1983). Ces effets sont atténués voire bloqués par l'administration d'un antagoniste aux récepteurs μ (Johnson & North, 1992). Ces résultats indiquent que la morphine augmente la neurotransmission dopaminergique par une voie indirecte (Di Chiara & North, 1992; Narita et al., 2001). La morphine, en activant les récepteurs μ , hyperpolarise les interneurons GABAergiques; ceci réduit l'inhibition qu'exercent les neurones GABAergiques sur les neurones à dopamine. Ces derniers augmentent alors leur fréquence de décharge ce qui a pour conséquence d'augmenter la sécrétion synaptique de dopamine dans les zones de projection. Cette hypothèse est également supportée par d'autres résultats i) confirmant la présence de récepteurs GABA_B sur les cellules dopaminergiques et ii) montrant que l'activation des récepteurs GABA_B inhibe le taux de décharge des cellules dopaminergiques et atténue l'auto-administration d'opiacés (Wirtshafter & Sheppard, 2001; Erhardt, 2002; Kaplan et al, 2003; Fadda et al, 2003; Kalivas, 1993; Steffensen et al., 1998).

1.3.3.2 Actions au niveau du striatum ventral

Tel que vu précédemment, le système mésocorticolimbique dopaminergique comprend, entre autres, de nombreuses projections ciblant le striatum ventral (ou noyau accumbens). Étant donnée que la morphine stimule la libération de dopamine dans le noyau accumbens, l'hypothèse d'une action des opiacés dans cette région a aussi été vérifiée. L'application de morphine sur les cellules du noyau accumbens cause une inhibition de leur activité spontanée (Hakan & Henriksen, 1989). Les études pharmacologiques et de microdialyse rapportent que l'administration d'un agoniste sélectif aux récepteurs μ n'a aucun effet sur la libération de dopamine (Longoni et al., 1991; Spaganel et al., 1992) alors qu'un agoniste aux récepteurs δ augmente la concentration extracellulaire de dopamine (Longoni et al., 1991). Par contre, un agoniste aux récepteurs κ produit une diminution significative de la libération de dopamine (Spaganel et al., 1992). Ces résultats indiquent que la modulation de la neurotransmission dopaminergique dans le striatum ventral par les opiacés est plus complexe que dans l'aire tegmentaire ventrale. Puisque la morphine possède une affinité plus grande pour les récepteurs μ et δ , on peut conclure que la morphine peut agir en synergie dans les deux régions pour stimuler la neurotransmission dopaminergique.

Certains effets de la morphine sur le comportement sont aussi observés suite à l'activation des récepteurs opiacés dans le noyau accumbens. En effet, les rats peuvent être entraînés à s'auto-administrer la morphine dans le noyau accumbens mais pas dans les zones adjacentes (Olds, 1982; Mc Bride et al., 1999). De plus, des injections

répétées de morphine cette région limbique produisent un conditionnement classique de préférence chez le rat (Van der Kooy et al., 1982); toutefois quelques résultats négatifs ont été rapportés (Bozarth & Wise, 1982; Schiltein et al., 1998). La stimulation des récepteurs opiacés dans le noyau accumbens a aussi un effet excitateur sur la locomotion mais, contrairement à ce que l'on a vu dans le cas d'injections de morphine dans l'aire tegmentaire ventrale, cette hyperactivation n'est pas dépendante de la neurotransmission dopaminergique (Kalivas et al., 1983; Schiltein et al., 1998; Matsuzaki et al., 2004). De façon générale, ces données suggèrent donc que le noyau accumbens constitue un substrat neuroanatomique impliqué le renforcement positif induit par les opiacés.

1.4 Phénomène de sensibilisation comportementale à la morphine

La sensibilisation comportementale à la morphine peut se manifester chez l'animal en laboratoire (rongeurs) par une augmentation progressive et durable de son effet stimulant sur l'activité motrice. Bien que la sensibilisation peut être induite suite à une injection unique de morphine, l'administration répétée et intermittente engendre une sensibilisation beaucoup plus prononcée et durable (Vanderschuren et al., 1997b; 2001). L'étude de la sensibilisation comportementale se divise en deux phases, la phase d'entraînement (induction) et la phase de test (expression de la sensibilisation). La phase d'entraînement consiste en l'injection de morphine, ou de solvant, à tous les deux jours, pendant plusieurs jours (note : les protocoles varient beaucoup d'une étude à l'autre). Immédiatement après chaque injection, l'activité motrice générale (déplacement, redressement, toilettage) de l'animal est mesurée. Environ une semaine après le dernier jour de la phase d'entraînement, tous les animaux reçoivent une dose

unique de morphine et leur activité motrice est mesurée, c'est le test de sensibilisation. Les études ont montré de façon non équivoque que les animaux traités avec la morphine au cours de la phase d'entraînement présente une réponse à une même dose de morphine significativement plus élevée que les animaux témoins (traités avec le solvant).

Il semble que différents substrats neurobiologiques sont mis à contribution lors de l'induction (phase d'entraînement) et de l'expression (phase de test de sensibilisation) de la sensibilisation (Cador et al., 1995; Vanderschuren & Kalivas, 2000). Par exemple, des injections répétées de morphine dans l'aire tegmentaire ventrale mais non dans le noyau accumbens induisent la sensibilisation à la morphine (Vezina & Stewart; 1990; Kalivas & Duffy, 1987; Cador et al., 1995).

1.4.1 Substrats neurobiologiques impliqués dans le développement de la sensibilisation à la morphine

Dans cette section, la discussion portera sur les principaux types de neurones dont l'implication dans le développement de la sensibilisation à la morphine a été sujette à plusieurs études. Étant donné que l'activation répétée des récepteurs opiacés de l'aire tegmentaire ventrale est suffisante pour l'induction du phénomène de sensibilisation, les études ont surtout porté sur les neurotransmetteurs présents dans cette région.

1.4.1.1 Rôle des neurones dopaminergiques

Plusieurs évidences suggèrent l'implication des neurones dopaminergiques de l'aire tegmentaire ventrale dans l'initiation de la sensibilisation comportementale à la morphine (voir Fig. 1).

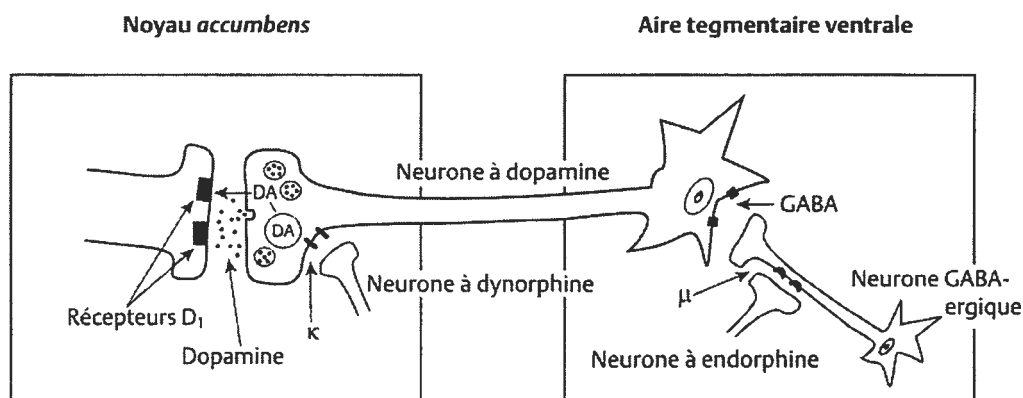


Fig. 1 Dans l'aire tegmentaire ventrale, la morphine active les récepteurs μ localisés sur les interneurons GABAergiques. Ceci soulève l'inhibition normalement entraînée par les interneurons GABAergiques sur les neurones dopaminergiques. (Voir texte pour plus de détails). Récepteurs D₁ ; récepteurs dopaminergiques de type 1, κ ; récepteur opiacé de type kappa, DA ; dopamine, GABA ; acide gamma-aminobutyrique, μ ; récepteur opiacé de type mu.

Source : Léonard, L. & Vallée, R. (2002). Opiacés. Dans les Presses de l'Université de Montréal (Éd.), Les psychotropes : pharmacologie et toxicomanie, p.370.

Tout d'abord, des injections répétées et intermittentes de morphine dans la région des cellules à dopamine, mais non dans la région de leurs terminaisons axonales, induisent une élévation progressive de la stimulation locomotrice (Stinus et al., 1980; Kalivas, 1985; Vezina et al., 1987). Cette hyperactivité locomotrice observée lors de la phase d'entraînement est de plus corrélée à une augmentation de dopamine extracellulaire dans le noyau accumbens (Kalivas et al., 1983; Kalivas, 1985; Kalivas & Duffy, 1990; Nestby et al., 1997; Vanderschuren et al., 2001). L'administration d'un antagoniste aux récepteurs μ directement dans l'aire tegmentaire ventrale, et non dans le striatum ventral, bloque l'initiation de la sensibilisation à la morphine (Kalivas & Duffy, 1987). Par contre, les études pharmacologiques obtiennent des résultats ambivalents au

sujet de la participation des récepteurs dopaminergiques. Une grande variété d'antagonistes dopaminergiques tels que l'étiopride, le sulpiride, le Ro 22-2586, le SCH 23390 et l'halopéridol n'ont pas empêché le développement de la sensibilisation à la morphine (Kalivas, 1985; Jeziorski & White, 1995; Vezina & Stewart, 1989). Seul l'antagoniste dopaminergique D₂, pimozide, bloque efficacement la sensibilisation à la morphine (Vezina & Stewart, 1989). Bien que la libération de dopamine soit une conséquence importante de l'administration de morphine, l'initiation de la sensibilisation comportementale à la morphine ne semble pas dépendante de l'activation des récepteurs dopaminergiques (Kalivas & Stewart, 1991; Vanderschuren & Kalivas, 2000). Par ailleurs, cette dernière observation suggère que d'autres neurotransmetteurs participent au développement de la sensibilisation aux effets stimulateurs de la morphine.

1.4.1.2 Rôle des neurones non-dopaminergiques (GABAergiques et glutamatergiques)

Dans l'aire tegmentaire ventrale, les récepteurs opiacés de type μ sont principalement localisés sur les interneurons inhibiteurs GABAergiques (voir Fig.1). Comme on l'a déjà vu, la morphine stimule la neurotransmission dopaminergique par le biais de l'inhibition directe de ces interneurons GABAergiques. Plusieurs études ont démontré que l'activation des récepteurs GABA_B situés dans l'aire tegmentaire ventrale bloque le développement de la sensibilisation comportementale à la morphine (Woo et al., 2001; Leite-Morris et al., 2004; Narita et al., 2003). Cette manipulation pharmacologique est aussi associée à une diminution dose-dépendante de la libération de dopamine (Fadda et al., 2003) ainsi que de l'expression de Fos, un marqueur de l'activité neuronale, dans le noyau accumbens (Kaplan et al., 2003; Leite-Morris et al., 2004).

Les données actuelles soutiennent donc l'hypothèse que les neurones GABAergiques jouent un rôle dans le développement de la sensibilisation à la morphine.

Le développement de la sensibilisation à la morphine nécessite aussi l'action d'un neurotransmetteur excitateur, appelé glutamate (Vanderschuren & Kalivas, 2000). Il est bien connu que le glutamate active les neurones dopaminergiques de la région ventrale du mésencéphale et augmente la concentration de dopamine extracellulaire (voir Fig. 2)(Mereu et al., 1991; Johnson et al., 1992; Suaud-Chagny et al., 1992).

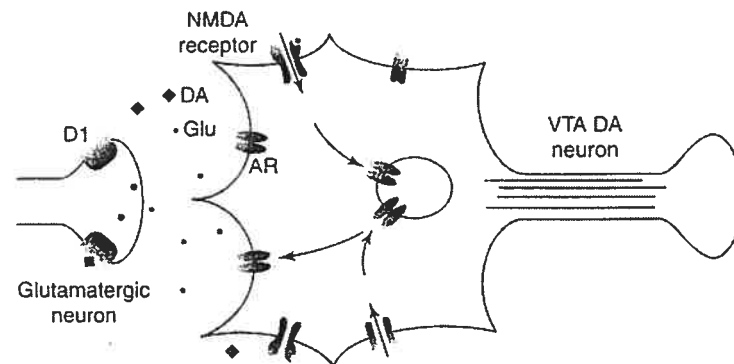


Fig. 2 Dans l'aire tegmentaire ventrale, la libération de glutamate active les récepteurs NMDA et non-NMDA localisés sur les neurones dopaminergiques. (Voir texte pour plus de détails). D₁ ; récepteurs dopaminergiques de type 1, DA ; dopamine, Glu ; glutamate, NMDA ; acide N-méthyl-D-aspartic, AR ; récepteur AMPA (acide α -amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazole proprionic), VTA DA neurons ; neurones dopaminergiques de l'aire tegmentaire ventrale.

Source : Carlezon, W.A. Jr. & Nestler, E.J. (2002). Elevated levels of GluR1 in the midbrain: a trigger for sensitization to drugs of abuse? *Trends in neurosciences*, 25(12), p.612.

Pour ce faire, le glutamate interagit avec des récepteurs ionotropiques de types NMDA et non-NMDA localisés dans cette région. La majorité des expériences pharmacologiques sur les récepteurs de type NMDA ont obtenu des résultats concluants, c'est-à-dire qu'en bloquant ces récepteurs, à l'aide de la dizocilpine (MK801) ou du CG19755, il n'y a pas développement de la sensibilisation à la morphine (Jeziorski et al., 1994; Vanderschuren et al., 1997a; 1998; Kosten & Bombace, 2000; Trujillo, 2000).

Toutefois, quelques résultats négatifs ont aussi été publiés (Ranaldi et al., 2000; Scheggi et al., 2002). Par ailleurs, l'implication des récepteurs de type non-NMDA, particulièrement les récepteurs AMPA, a aussi été rapportée. Le clonage de ce récepteur AMPA a permis la caractérisation de quatre de ses sous-unités, identifiées de GluR1 à GluR4 (Bettler & Mulle, 1995). Une étude originale démontre qu'en stimulant l'expression de la sous-unité GluR1 du récepteur AMPA par un vecteur viral dans l'aire tegmentaire ventrale, il y a augmentation de la locomotion induite par la morphine (Carlezon et al., 1997). Allant dans le même sens, d'autres études ont confirmé que cette sous-unité GluR1 est modifiée suite à plusieurs expositions à la morphine (Vekovischeva et al., 2001; Carlezon et al., 2002) et que l'injection d'un antagoniste aux récepteurs AMPA contrecarre le développement de ce phénomène adaptatif (Carlezon et al., 1999). De façon générale, ces expériences suggèrent fortement que le système glutamatergique soit impliqué dans l'initiation de la sensibilisation comportementale à la morphine.

1.4.2 La neurotensine

Dans le système nerveux, le tridecapeptide endogène qu'est la neurotensine possède des caractéristiques de neurotransmetteur ainsi que de neuromodulateur du système dopaminergique. Ce neuropeptide a la particularité d'être co-localisé avec la dopamine dans des neurones de l'aire tegmentaire ventrale (Kalivas & Stewart, 1991; Bayer et al., 1991; Kalivas, 1993). En effet, les techniques d'autoradiographie et de localisation ultrastructurale ont permis de situer la neurotensine à l'intérieure des neurones dopaminergiques, plus précisément au niveau du corps cellulaire (Bayer et al., 1991).

De plus, la neurotensine est libérée avec ou sans la dopamine dans le cortex préfrontal et le noyau accumbens respectivement, soient des sites de projection du système mésocorticolimbique (Bean & Roth, 1991; During et al, 1992; Binder et al., 2001). Ces observations suggèrent que la neurotensine puisse prendre part aux effets des opiacés, en modulant l'activité de la dopamine dans le système mésocorticolimbique.

1.4.2.1 Récepteurs à neurotensine; NT₁, NT₂, NT₃

À ce jour, trois types de récepteurs neurotensinergiques ont été découverts, identifiés et clonés (Tanaka et al., 1990; Mazella et al., 1996; Mazella et al., 1998). Le premier récepteur découvert, NT₁, possède la plus grande affinité envers la neurotensine en plus d'être reconnu pour son insensibilité face à l'antihistaminique levocabastine (Tanaka et al., 1990; Vincent et al., 1999). Ce type de récepteur à neurotensine est largement répandu à travers toutes les subdivisions majeures du système nerveux central (Fassio et al., 2000). Une forte concentration de récepteurs NT₁ apparaît notamment dans l'aire tegmentaire ventrale et la substance noire (Boudin et al., 1996; Alexander & Leeman, 1998; Vincent et al., 1999; Fassio et al., 2000), soient les deux régions où logent les corps cellulaires des neurones dopaminergiques, ainsi que dans le cortex préfrontal et le noyau accumbens quoiqu'en plus faible densité (Boudin et al., 1998; Alexander & Leeman, 1998). De plus, on rapporte que ce récepteur se trouve aussi bien sur les terminaisons axonales (pré-synaptique) que sur les neurones cibles (post-synaptique) (Boudin et al., 1996; Fassio et al., 2000). Le second récepteur à neurotensine, appelé NT₂, possède une faible affinité pour le neuropeptide (Yamada et al., 1998) tout en étant sensible à l'antihistaminique levocabastine (Mazella et al., 1996;

Yamada et al., 1998; Vincent et al., 1999). Le récepteur NT₂ est faiblement détecté dans l'aire tegmentaire ventrale et dans la substance noire (Sarret et al., 2003b). On le retrouve davantage dans le système olfactif, l'hippocampe et le cortex cérébelleux (Mazella et al., 1996; Vincent et al., 1999; Sarret et al., 2003b). Finalement, le récepteur NT₃ semble avoir une localisation de nature intracellulaire (Mazella et al., 1998), ce qui suggère des fonctions dans la signalisation cellulaire de la neurotensine. Quoique présent dans le cortex frontal, le noyau accumbens et l'aire tegmentaire ventrale, il n'y est qu'en faible densité (Sarret et al., 2003a). Les récepteurs de type NT₁ et NT₂, contrairement à NT₃, appartiennent à la famille des récepteurs couplés aux protéines G (Tanaka et al., 1990; Mazella et al., 1996; Mazella et al., 1998). En conséquence de leur distribution distincte dans le système nerveux, il est possible que ces trois types de récepteurs participent à différentes fonctions physiologiques de la neurotensine (Mazella et al., 1996; Yamada et al., 1998).

1.4.2.2 Effets de la neurotensine sur le système dopaminergique

L'interaction entre la neurotensine et la dopamine dans le système nerveux central est fort complexe. Les connaissances actuelles expliquent les effets opposés de la neurotensine sur la modulation de la dopamine par la localisation pré- ou post-synaptique des récepteurs neurotensinergiques. C'est-à-dire que lorsque la neurotensine agit via un récepteur situé sur des terminaisons axonales (pré-synaptique), l'action résultante est l'augmentation de la libération de dopamine. Par contre, la neurotensine et la dopamine modulent de façon divergente l'activité de leurs neurones cibles communs. Il en résulte que la liaison de la neurotensine avec un récepteur (post-synaptique) a pour

conséquence la diminution de l'action inhibitrice de la dopamine sur ce même neurone. Cette hypothèse est vérifiée par l'étude des effets de la neurotensine dans l'aire tegmentaire ventrale versus dans le noyau accumbens et le cortex préfrontal.

Dans l'aire tegmentaire ventrale, les récepteurs à neurotensine sont principalement localisés sur les terminaisons axonales des neurones GABAergiques (Boudin et al., 1996). Les études électrophysiologiques mettent en évidence les conséquences de l'application de neurotensine directement dans cette zone cérébrale sur l'activité des neurones dopaminergiques. Cette méthode révèle que la neurotensine provoque l'augmentation du nombre de neurones dopaminergiques actifs (Farkas et al., 1997; Nalivaiko et al., 1998; Sotty et al., 1998) en plus de stimuler la libération de dopamine dans le noyau accumbens, le cortex préfrontal, l'amygdale, le septum et le tubercule olfactif (Kalivas et al., 1984; Kalivas & Taylor, 1985; Drumheller et al., 1990; Ford & Marsden, 1990; Sotty et al., 1998). Plusieurs études neurochimiques tentent de mettre en lumière le mécanisme d'action par lequel la neurotensine agit dans l'aire tegmentaire ventrale pour favoriser la neurotransmission dopaminergique. Certaines évidences indiquent que la neurotensine s'oppose à l'action du récepteur dopaminergique pré-synaptique D₂, probablement en activant des récepteurs de type NT₁ (Werkman et al., 2000). Le récepteur pré-synaptique D₂ a pour fonction d'exercer un contrôle inhibiteur sur la neurotransmission dopaminergique en diminuant la fréquence de décharge des neurones dopaminergiques et la synthèse de dopamine (Kalivas, 1993). En bloquant l'activation du récepteur D₂, la neurotensine permet donc l'augmentation de la libération de dopamine (Farkas et al., 1997; Legault et al., 2002). De plus, du point de vue comportementale, l'administration de neurotensine dans l'aire tegmentaire ventrale

stimule la locomotion chez le rat (Cador et al., 1985; Kalivas & Duffy, 1990) et possède des propriétés de renforcement positif (Kalivas & Taylor, 1985; Rompré & Gratton, 1993). Toutes ces données tendent vers la conclusion que l'activation des récepteurs à neurotensine de l'aire tegmentaire ventrale, densément localisés sur les terminaisons pré-synaptiques, a pour effet net de favoriser la neurotransmission dopaminergique (Beauregard et al., 1992).

L'ensemble des données actuelles indique que la neurotensine s'oppose à l'inhibition de l'activité spontanée des cellules du noyau accumbens exercée par la dopamine. Une étude d'iontophorèse menée par Beauregard et ses collègues (1992) rapporte que la neurotensine injectée dans cette région n'affecte que très peu l'activité des cellules alors que la dopamine inhibe plusieurs d'entre elles. Il est intéressant de constater que la co-application de neurotensine et de dopamine résulte en la diminution de l'inhibition dopaminergique. Cette action antagoniste de la neurotensine peut aussi être observée sur le comportement. En effet, il est connu que l'injection d'un agoniste dopaminergique dans le noyau accumbens stimule la locomotion chez le rat et que l'administration de neurotensine bloque cet effet excitateur (Kalivas et al., 1984; 1986). Plusieurs évidences suggèrent que la neurotensine induit ces effets opposés à la dopamine via des récepteurs NT_1 post-synaptiques (Kalivas et al., 1984). À faibles doses, la neurotensine stimule la libération de GABA et inhibe la libération de dopamine dans le noyau accumbens (Tanganelli et al., 1994; Li et al., 1995). Il a été démontré que l'antagoniste $GABA_A$, bicuculline, bloque l'inhibition de la libération de dopamine sans toutefois affecter la libération de GABA (Tanganelli et al., 1994). Ceci suggère que la neurotensine agisse sur les neurones GABAergiques (donc en post-synaptique) afin de

stimuler la libération de GABA, qui inhibe la libération de dopamine. Plus précisément, il a été rapporté que la neurotensine contrecarre les effets inhibiteurs de l'activation des récepteurs post-synaptiques D_2 sur la libération de GABA (Li et al., 1995). Cette hypothèse est appuyée par des études anatomiques qui confirment la présence des récepteurs dopaminergiques D_2 et neurotensinergiques NT_1 sur des dendrites de neurones inhibiteurs du noyau accumbens (Delle Donne et al., 1996; 2004). De plus, la neurotensine, à fortes doses, stimule la libération de dopamine par des récepteurs pré-synaptiques, ce qui supporte que l'action antagoniste soit plutôt de nature post-synaptique (Tanganelli et al., 1994; Weatherspoon et al., 1996; Heaulme et al., 1997; Pickel et al., 2001; Diaz-Cabiale et al., 2002).

Une interaction semblable entre la neurotensine et la dopamine a aussi été observée dans le cortex préfrontal. La neurotensine et la dopamine sont contenues et libérées à partir des mêmes terminaisons axonales dans cette région corticale (Bean et al., 1990; Bean & Roth, 1991). Des études d'électrophysiologie et d'enregistrement intracellulaire ont démontré que la neurotensine augmente la fréquence de décharge des neurones du cortex préfrontal (Audinat et al., 1989; Stowe & Nemeroff, 1991). En effet, le niveau de glutamate extracellulaire augmente suite à l'application de neurotensine, comme démontré à l'aide de cultures de cellules corticales (Antonelli et al., 2004). Par contre, la dopamine inhibe l'activité spontanée des cellules à glutamate de cette même région (Beauregard et al., 1992; Law-tho et al., 1994). On croit que la dopamine agit via deux mécanismes; l'un direct sur les neurones glutamatergiques et l'autre indirect par la libération de GABA, qui diminue ensuite la libération de glutamate (Law-Tho et al., 1994; Grobin & Deutch, 1998; Sesack et al., 2003; Harte & O'Connor, 2004).

Beauregard et ses collègues (1992) rapportent que l'administration de neurotensine dans le cortex préfrontal diminue l'inhibition des cellules par la dopamine. Cette étude révèle aussi que la neurotensine bloque les effets inhibiteurs résultant de l'activation des récepteurs post-synaptiques D₁ par un agoniste dopaminergique. Ceci indique que la neurotensine s'oppose à la modulation dopaminergique sur les neurones du cortex préfrontal. Puisque la neurotensine favorise la libération de dopamine via des récepteurs pré-synaptiques (Weatherspoon et al., 1996), il semble que l'action antagoniste de la neurotensine soit de nature post-synaptique (sur les neurones glutamatergiques). Au niveau du comportement, la neurotensine diminue l'inhibition de l'activité locomotrice induite par un agent pharmacologique qui bloque le recaptage de la dopamine (Radcliff & Erwin, 1996). Toutes ces données renforcent l'hypothèse que la neurotensine s'oppose à l'action inhibitrice de la dopamine sur l'activité spontanée des neurones (glutamatergiques) dans le cortex préfrontal et que cet effet est de nature post-synaptique.

1.4.2.3 Rôle possible dans le phénomène de sensibilisation comportementale à la morphine

Étant donné l'importance du système mésocorticolimbique dans la sensibilisation comportementale, la localisation stratégique de la neurotensine dans l'aire tegmentaire ventrale, combinée à sa co-existence avec la dopamine, incitent à étudier le rôle potentiel du neuropeptide dans ce phénomène (voir Fig. 3).

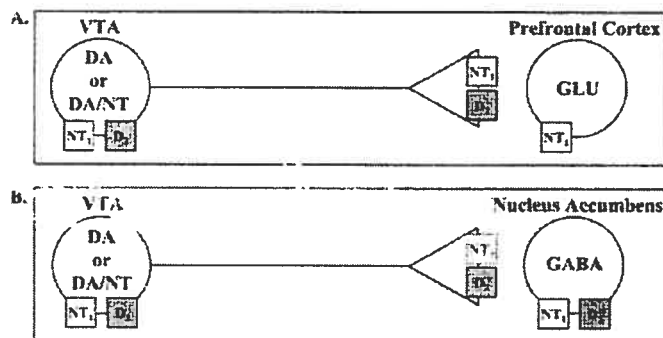


Fig. 3 Dans l'aire tegmentaire ventrale, la neurotensine active les récepteurs NT_1 localisés sur les neurones dopaminergiques qui envoient des projections vers A) le cortex préfrontal et B) le noyau accumbens. (Voir texte pour plus de détails). VTA ; aire tegmentaire ventrale, DA ; dopamine, NT ; neurotensine, NT_1 ; récepteur à neurotensine de type 1, D_2 ; récepteur dopaminergique de type 2, GABA ; acide gamma-aminobutyrique, GLU ; glutamate.

Source : Binder, E.B. , Kinkead, B., Owens, M.J. & Nemeroff, C.B. (2001). Neurotensin and dopamine interactions. *Pharmacological reviews*, 53(4), p.464.

Comme mentionné précédemment, l'administration directe de morphine dans l'aire tegmentaire ventrale entraîne le développement de la sensibilisation à ses effets stimulateurs sur la locomotion (Joyce & Iversen, 1979; Kalivas et al., 1983; Kalivas, 1985; Vezina et al., 1987; Kalivas & Duffy, 1990). Développement étroitement associé à une augmentation persistante de dopamine extracellulaire dans le noyau accumbens (Kalivas et al., 1983; Kalivas, 1985; Kalivas & Duffy, 1990; Nestby et al., 1997; Vanderschuren et al., 2001). Or, la neurotensine stimule la neurotransmission dopaminergique de l'aire tegmentaire ventrale vers le noyau accumbens (Kalivas & Taylor, 1985; Kalivas & Duffy, 1990; Ford & Marsden, 1990; Sotty et al., 2000). De plus, des injections répétées de ce neuropeptide provoquent aussi une augmentation progressive de l'activité locomotrice chez le rat (Kalivas & Taylor, 1985; Kalivas & Duffy, 1990). Ajouté à cela que l'élévation de neurotensine a déjà été confirmée dans une région cérébrale, l'aire périaqueducule grise, suite à l'administration de morphine

(Stiller et al., 1997). Globalement, ceci fait de la neurotensine un candidat prometteur dans le développement de la sensibilisation comportementale à la morphine.

La participation de la neurotensine aux effets stimulants de d'autres drogues d'abus a déjà été rapportée (Steinberg et al, 1994; Panayi et al., 2002; Binder et al, 2001; Steketee, 2003). Comme la morphine, l'exposition répétée à l'amphétamine augmente la libération de dopamine dans le noyau accumbens (Swerdlow et al., 1987; Nestby et al., 1997). Récemment, une augmentation simultanée de neurotensine dans le noyau accumbens a aussi été révélée des suites du même traitement (Gruber et al., 2002). Une implication plus directe est fournie par une étude menée par Rompré (1997) démontrant que la stimulation des récepteurs à neurotensine rend le rat hypersensible aux effets stimulants de l'amphétamine. Dans une autre étude, l'inactivation des récepteurs à neurotensine par l'antagoniste SR-48692 atténue significativement l'initiation de la sensibilisation comportementale à l'amphétamine (Rompré & Perron, 2000). Indiquant ainsi que la neurotensine endogène contribue normalement au développement de la sensibilisation à ce psychostimulant.

Par ailleurs, la sensibilisation croisée, où la pré-exposition à une drogue augmente la sensibilité aux propriétés stimulantes d'une seconde drogue, a été maintes fois confirmées entre la morphine et l'amphétamine (Vezina et al., 1989; Vezina & Stewart, 1990; Cunningham et al., 1997; Vanderschuren et al., 1997b). Ceci indique qu'il existe un dénominateur commun dans le mécanisme d'action de ces drogues qui est responsable de la sensibilisation comportementale à leurs effets stimulants. Puisqu'il a déjà été rapporté que la neurotensine est impliquée dans le développement de la

sensibilisation comportementale à l'amphétamine, l'exploration du rôle potentiel de la neurotensine dans l'initiation de la sensibilisation à la morphine est fortement suggérée.

1.5 Hypothèses

La présente expérience a pour objectif d'étudier le rôle de la neurotensine dans l'initiation de la sensibilisation comportementale à la morphine. Basées sur des études antérieures, mes hypothèses sont les suivantes:

- 1) Au jour 1 de la phase d'entraînement, l'antagoniste aux récepteurs à neurotensine SR-48692 ne devrait pas altérer la réponse locomotrice induite par la morphine par rapport aux groupes contrôles (morphine seulement) (Rompré & Perron, 2000; Panayi et al., 2002).
- 2) Au jour 7 de la phase d'entraînement, les rats traités avec l'antagoniste SR-48692 et la morphine devraient démontrer une augmentation de l'activité locomotrice significativement atténuée par rapport aux groupes recevant uniquement de la morphine (Santucci et al., 1997; Azzi et al., 1998).
- 3) Au jour 14, test de sensibilisation, le traitement avec l'antagoniste aux récepteurs à neurotensine SR-48692 devraient avoir significativement atténué, ou bloqué, l'augmentation de la locomotion résultant de l'exposition répétée et intermittente à la morphine (Rompré & Perron, 2000; Panayi et al., 2002).

2. Article

Evidence for a role of endogenous neurotensin in the development of sensitization to the locomotor stimulant effect of morphine.

Running title : Neurotensin and morphine sensitization.

Karine Lévesque & Pierre-Paul Rompré

Centre de recherche Fernand-Seguin, Hôpital Louis-H. Lafontaine and Département de psychiatrie, Université de Montréal

Corresponding Author: P.-P. Rompré, Centre de recherche Fernand-Seguin,

Hôpital Louis-H. Lafontaine, 7331, Hochelaga,

Montréal(Québec), Canada, H1N 3V2.

Phone: (514) 251-4015

Fax (514) 251-2617

E-mail: XXXXXXXXXX

Summary

This experiment was aimed at exploring the role of endogenous neurotensin in the development of morphine sensitization. During the initial training phase, rats were injected every second day for one week (Days 1-3-5-7) with one of the three doses of the neurotensin antagonist SR-48692 (160, 320 or 640 $\mu\text{g}/\text{kg}$, ip) or its vehicle and, 30 min later, with morphine (5.0 mg/kg, ip) or its vehicle. Immediately after the second injection, the ambulatory, vertical and non-ambulatory movements of each rat was measured for 2 h in photocell cages. One week after the training phase (sensitization test; Day 14), each group of rats received a single injection of morphine (2.5 mg/kg, ip) and their locomotor activity was assessed for 2 h. The results show that when given alone, SR-48692 produced levels of locomotor activity that were not statistically different from control except a slight and time-dependent increase in non-ambulatory activity on Day 1. On Day 7, morphine induced an increase in ambulatory and vertical activity that was stronger than Day 1 and this effect was attenuated by SR-48692 during the second hour at every doses. The sensitization test revealed that rats pre-exposed to morphine alone displayed stronger ambulatory and vertical activity than vehicle pre-treated rats, a sensitization effect attenuated and prevented by SR-48692 at 320 and 640 $\mu\text{g}/\text{kg}$ respectively. The present results demonstrate that endogenous neurotensin is required for the initiation of behavioral sensitization to morphine.

Keywords : morphine, locomotion, neurotensin, sensitization, SR-48692

1. Introduction

The progressive enhancement of the locomotor stimulant effect of a drug following repeated intermittent exposure is known as behavioral sensitization. Opiates, just like psychostimulants, are thought to induce long-lasting neuroadaptations that lead to this phenomenon and therein contributing to major aspects of addiction such as craving and relapse (Koob and Le Moal, 1997; Koob and Le Moal, 2001). The exact neural mechanisms involved in morphine sensitization still remains to be elucidated, but many studies support a role for the mesocorticolimbic dopaminergic system. When injected directly into the ventral tegmental area (VTA), morphine stimulates dopamine (DA) impulse flow and release (Kalivas and Duffy, 1987; Henry et al., 1992), and these effects are accompanied by an increase in locomotor activity that sensitizes with repeated injections (Vezina et al., 1987). Morphine sensitization is blocked by the DA antagonist, pimozide, and by the opioid antagonist, naloxone, suggesting that morphine is acting on VTA mu receptors to stimulate DA neurotransmission, a crucial phenomenon for induction of sensitization (Kalivas and Duffy, 1987; Vezina and Stewart, 1989). Interestingly, repeated injections of amphetamine into the VTA, but not into the nucleus accumbens, sensitize to the locomotor activating effect of intra-VTA and of systemic morphine (Bjijou et al, 1996; Cador et al, 1995; Vezina and Stewart, 1990); that further reinforces a role for VTA DA in the development of morphine sensitization.

Based on the evidence that neurotensin (NT) modulates mesencephalic DA neurotransmission, Rompré and Perron (2000), and Panayi et al (2002) investigated the role of this peptide in the development of sensitization to amphetamine and reported that

co-treatment with the selective NT antagonist, SR-48692, prevented the induction of amphetamine sensitization. In view of the possible role of VTA DA in the development of morphine sensitization, we investigated in this study, whether endogenous NT also plays a key role in the development of sensitization to the locomotor stimulant effect of systemic morphine. The preliminary data of this study have already been presented in an abstract form (Lévesque et al., 2002).

2. Materials and Methods

2.1. Animals

Subjects were male Long-Evans (Charles River, St-Constant, Québec, Canada) rats weighing 300-325g at time of arrival at the animal colony. They were housed two per cages with free access to food and water in a temperature- and humidity-controlled room. A 12h light/ 12h dark cycle was used, and the light was on at 06:30. The rats were given one week habituation period to the room before the experiment started.

2.2. Behavioral testing

Experiment consisted of a training phase and a sensitization test. During the training phase, different group of rats were injected on four occasions, every second day (Days 1-3-5-7), first with one of the three doses of a neurotensin receptor antagonist SR-48692 (160, 320 or 640 $\mu\text{g}/\text{kg}$, ip), or its vehicle, and thirty minutes later, with morphine (5.0 mg/kg, ip), or its vehicle. Ambulatory, non-ambulatory and vertical movements were measured in photocells cages (Auto-track system, Columbus Instruments, Columbus, OH, USA) for two hours starting immediately after the second injection. One week after

the last day of the training phase (Day 14), the effect of a single injection of morphine (2.5 mg/kg, ip) on locomotor activity was measured in all groups for two hours (sensitization test). Experiments were always performed during the light phase (between 08:00 and 17:00), in a separate room, the lights off and a white noise (60db) was used to mask external sounds. Twenty-four hours prior each test a drop of vanilla essence (10% concentration in mineral oil) was placed in each corner of the test cages below the wire-mesh floor to increase discriminative power of the test environment.

2.3. *Apparatus*

Test cages consisted of four Plexiglass walls of 43 cm (wide) x 43 cm (length) x 33 cm (height) and a wire-mesh floor; they were equipped with two arrays of 15 infrared photocells located 1.5 cm above the floor that detected horizontal movements, and a third array of 15 photocells located at 14.5 cm above the floor that detected vertical movements. Computer software quantified ambulatory activity by calculating the distance travelled beyond a virtual box of 9.6 X 9.6 cm (3 x 3 photocells) drawn around the animal; the location of the animal within the box was recorded by the computer ten times per second. Movements detected within the virtual box were considered as non-ambulatory and were quantified as time (in sec) during which photocells breaks were detected. Vertical activity was quantified as the total number of photocells broken by rearing of the animal.

2.4. *Drugs*

SR-48692 [2-(1-[7-chloro-4-quinolinyl]-5-[2,6-dimethoxyphenyl]-1H-pyrazol-3-carbonylamino-adamantane-2-carboxyl acid)] was mixed with two drops of Tween-80

and homogenized in 20 ml of distilled water. The solution was sonicated, stirred for several minutes just before being injected intraperitoneally in a volume of 1 ml/kg. Morphine sulfate was dissolved in physiological saline (0.9%) and injected in a volume of 1 ml/kg. Doses are expressed as salt.

2.5. *Statistical analysis*

Measures of locomotor activity (distance travelled, time of non-ambulatory movements, and vertical counts) were totalled every thirty minutes for all subjects and group means calculated. Data collected during the training and during the sensitization test were analysed respectively with a three-way (day, treatment and time, training phase data) and a two way (treatment and time, sensitization test data) analysis of variance (ANOVA) for repeated measures. Comparisons among means were made with Duncan's multiple range post-hoc test, and the level of significance set at 0.05 (Statistica V5.0, Statsoft).

3. Results

3.1. *Training phase.*

On the first testing day, morphine induced an increase in ambulatory activity over the two hour test period that was dose-dependently attenuated by SR-48692 (Fig. 4, top panel). On Day 7, morphine induced an increase in ambulatory activity that was stronger than the one on Day 1 and this sensitization effect was attenuated by SR-48692 during the second hour at every doses (Fig. 4, bottom panel). Ambulatory activity recorded in the rats treated with SR-48692 alone was not statistically different than control (saline-treated rats), neither on Day 1, nor on Day 7 (data not shown).

The neurotensin antagonist had a different effect on morphine-induced increases in non-ambulatory movements. On Day 1, it tends to attenuate the stimulant effect of morphine but this attenuation was statistically significant only during the second 30 min time period and at the highest dose only. (Fig. 5, top panel). On Day 7, the increase in non-ambulatory activity induced by morphine was not stronger than on Day 1, except for those animals treated with the two highest doses of SR-48692 in the first 30 min of the test period. (Fig. 5, bottom panel). When given alone, SR-48692 produced a slight and time dependent increase in non-ambulatory movements. On Day 1, non-ambulatory movements recorded in animals treated with 160 $\mu\text{g}/\text{kg}$ and those with 640 $\mu\text{g}/\text{kg}$ were higher than those recorded in control animals between 30 and 60 min and 60 and 90 min after the injection respectively. On Day 7 there was no difference in the amount of non-ambulatory movements between groups at any of the time period. (not shown).

Morphine also stimulated vertical activity on Day 1 during the last 90 min of the test period and this stimulant effect was weakly attenuated by SR-48692. On Day 7, there was a clear sensitized response to morphine as the vertical activity was higher than that observed on Day 1 at every time period. This was also observed in the animals treated with morphine and SR-48692, except in the last hour in those animals that received a dose of SR-48692 of 320 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Although a morphine sensitized response was observed in those groups, it was much lower than that observed in the animals treated with morphine alone, more particularly at 320 and 640 $\mu\text{g}/\text{kg}$ of SR-48692.

3.2. Sensitization test

The ANOVA performed on measures of ambulatory movements revealed a significant effect of treatment ($F_{7,72} = 5.3, P < 0.001$). The post-hoc test showed that rats pre-exposed during the training phase to morphine alone, and those pre-exposed to the two lowest doses of SR-48692 plus morphine, had more ambulatory movements than control rats (VEH+VEH) during the two hour test period (Fig. 7, top panel). This sensitization effect was dose-dependently attenuated by the neurotensin antagonist. Mean ambulatory responses of those rats pre-exposed to the two highest dose of SR-48692 plus morphine (SR320+MOR and SR640 + MOR) were statistically different than that of the rats pre-exposed to morphine alone (VEH+MOR) at every time period (Fig. 7, top panel).

During the last 30 min period, mean ambulatory responses of those rats pre-exposed to the highest dose of SR-48692 plus morphine (SR640 + MOR) were not statistically different than that of the control rats (VEH + VEH). Pre-exposure to SR-48692 alone during the training phase did not alter sensitivity to morphine-induced ambulatory responses throughout the test (Fig. 7, bottom panel).

The ANOVA performed on measures of non-ambulatory movements yielded a significant treatment by time interaction ($F_{21,219} = 2.61, P < 0.001$). Non-ambulatory responses to morphine were significantly higher than control (saline pre-exposed) for the morphine-alone pre-exposed rats but only during the first 30 min period (Fig. 8, top panel). The neurotensin antagonist did not attenuate the weak sensitization effect; in fact it potentiated the morphine effect at every doses in the last 30 min period. Rats pre-exposed to morphine and SR-48692 were more responsive in the last 30 min than controls, and more responsive than morphine pre-exposed rats at 160 $\mu\text{g}/\text{kg}$ and 640

$\mu\text{g}/\text{kg}$. When given alone repeatedly, SR-48692 did not change the sensitivity to morphine-induced non-ambulatory activity, except at the highest dose in the last 30 min (Fig. 8, bottom panel).

The ANOVA performed on measures of vertical activity yielded a significant effect of treatment ($F_{7,73} = 2.9, P < 0.01$). Vertical activity after morphine was significantly higher than control (saline pre-exposed) for the morphine-alone pre-exposed rats at every 30 min period, a sensitization effect that was attenuated by SR-48692 at every dose (Fig. 9, top panel). In effect, rats pre-exposed to SR-48692 and morphine showed a response to morphine that was significantly lower than morphine alone pre-exposed rats during the first three 30 min periods. In the last 30 min, only those rats pre-exposed to the highest dose of SR-48692 plus morphine showed higher vertical activity than controls.

Repeated exposure to SR-48692 alone did not alter morphine-induced vertical activity, except at the highest dose between 60 and 90 min after the injection.

4. Discussion

The present study was aimed at testing the hypothesis that endogenous neurotensin plays a role in the development of sensitization to the locomotor activating effect of morphine. Results show that pre-treatment with the selective neurotensin antagonist, SR-48692, before morphine during the training phase, dose-dependently decreased sensitization to both the ambulatory and vertical movements induced by morphine. The fact that the non-ambulatory activity of SR-48692 plus morphine group was not statistically different from morphine alone during the first 90 min of the sensitization test allows us to exclude the possibility of intense non-ambulatory movements that could have interfered with the

expression of ambulatory and vertical movements, and accounts for the effectiveness of the two higher doses of the neurotensin antagonist. A possible interference cannot be excluded for the last 30 min period where higher levels of non-ambulatory activity were observed in the rats pre-exposed to SR-48692 plus morphine; the magnitude of non-ambulatory activity recorded during that time period, although statistically significant, is too small to account for the decrease in vertical and ambulatory activity however.

Because the range of doses of SR-48692 effective in this study has been previously reported to block several physiological effects of neurotensin (Gully *et al.*, 1993; Poncelet *et al.*, 1994; Steinberg, *et al.*, 1994; Steinberg, *et al.*, 1995; Stoessl, 1995; Fernández *et al.*, 1996), and because this compound is highly selective for neurotensin receptors (Gully *et al.*, 1993), the present data strongly suggest that activation of neurotensin receptors is required for the development of sensitization to morphine-induced some components of locomotor activity. Our data are in line with the previous reports showing that the neurotensin receptor antagonist, SR-48692, significantly attenuated the development of amphetamine sensitization (Rompré and Perron, 2000; Panayi *et al.*, 2002) and that repeated stimulations of neurotensin receptors with neurotensin itself, or its analogs D-Tyr[11]neurotensin, lead to a sensitized response to amphetamine (Rompré, 1997).

In the central nervous system, neurotensin interacts with three known receptors subtypes two of which, NTS1 and NTS2, have been linked to second messenger pathways (see Vincent *et al.*, 1999). SR-48692, like neurotensin, displays a higher affinity for subtype 1 (NTS1) over subtype 2 (NTS2) (Gully *et al.*, 1993), and because it is effective here at

relatively low doses, we can conclude that it acted through NTS1 to prevent morphine sensitization. Many reports have confirmed its efficiency at blocking several physiological effects of neurotensin known to be mediated by NTS1. For instance, SR-48692 inhibit the stimulatory effect of neurotensin on K^+ -evoked dopamine release from Guinea Pig striatal slices and in mesencephalic neurons in culture (Brouard et al., 1994), the neurotensin- induce Ca^{2+} -dependent excitatory effect in mesencephalic dopaminergic neurons in culture (St-Gelais et al., 2004) and the neurotensin- induce turning and circling behavior (Gully et al., 1993; Steinberg et al., 1994). Moreover, SR-48692 lack antagonistic effects on neurotensin- induce hypothermia and antinociception, physiological phenomena insensitive to NTS1 blockade (Gully et al., 1995) Taken together, these results further suggest that SR-48692 attenuated or blocked the development of behavioral sensitization to the locomotor activating effects of morphine via blockade of NTS1 receptors.

At least three brain sites may be principally involved in the initiation of morphine sensitization, the ventral tegmental area, the prefrontal cortex and the ventral pallidum. As mentioned previously, microinjections of morphine into the ventral tegmental area induce behavioral sensitization to its locomotor stimulating effect (Vezina et al., 1987). This region contains neurons that co-localize neurotensin and dopamine and contains a dense plexus of neurotensin terminals (Seroogy et al, 1987; Studler et al, 1988; Uhl et al., 1977; Zahm et al., 2001). High density of NTS1 receptors are also present in the ventral tegmental area (Boudin et al., 1996). Neurotensin is present both in projections that target the nucleus accumbens and in the prefrontal cortex. It is well known that

neurotensin acts in the ventral tegmental area by stimulating the dopaminergic neurotransmission (Laitinen et al., 1990; Seutin et al, 1989). Injections of neurotensin in this region induce locomotor hyperactivity (Kalivas and Taylor, 1985; Kalivas and Duffy, 1990) and support positive reinforcement behaviors such as self-administration and conditioned place preference (Glimcher et al., 1984, 1987). Moreover, repeated neurotensin injections in the ventral tegmental area lead to a dopamine-dependent increase in locomotor activation (sensitization) (Kalivas and Duffy, 1990). A hypothesis to account for the effectiveness of SR-48692 is that morphine stimulated neurotensin release in the ventral tegmental area, which led to an increase in dopamine impulse flow, a phenomenon that is critical for the development of morphine sensitization. But this hypothesis remains speculative as there are no empirical evidence to date that support such an effect of morphine. In fact, previous studies have shown that SR-48692, administered systemically or directly into the ventral tegmental area failed to block neurotensin-induced increase in dopamine cell firing and dopamine release into the nucleus accumbens (Gully et al., 1993; Leonetti et al., 2002; Pinnock and Woodruff, 1994); findings that go against an action in the ventral tegmental area.

The prefrontal cortex contains neurotensin terminals (Seroogy, *et al.*, 1987; Studler, *et al.*, 1988) and NTS1 receptors (Boudin *et al.*, 1996), and previous studies indirectly suggests that it may be involved in morphine sensitization. Bjjjou et al (2002) have shown that 6-hydroxydopamine lesions of the prefrontal cortex block the development of cross-sensitization between amphetamine and morphine. Since neurotensin is localized in dopamine terminals and co-released with this neurotransmitter into the prefrontal cortex, it could be hypothesized that in Bjjjou et al's study, neurotensin was

also depleted by the lesions. Although it is not known whether morphine stimulates neurotensin release in the prefrontal cortex, previous studies has shown that morphine stimulates dopamine utilization in the prefrontal cortex (Kalivas and Duffy, 1987; Vezina et al., 1992), hence suggesting that it may increase neurotensin release. Further support of a role for neurotensin in the prefrontal cortex comes from the evidence that activation of neurotensin receptors in this region stimulates midbrain dopamine cell firing (Rompré, *et al.*, 1998), a physiological effect that results in midbrain dopamine release, a key physiological condition in the development of morphine sensitization (see Kalivas and Stewart, 1991). Against a role for an action in the prefrontal cortex are recent electrophysiological data showing that microinjections of SR-48692 in this region increase the number of spontaneously active midbrain dopamine neurons in the anesthetized rats (Santucci *et al.*, 1997), a finding that suggests that activation of SR-48692 sensitive neurotensin receptors inhibits, rather than stimulates, midbrain dopamine impulse flow. But this latter study also showed that, when injected systemically, SR-48692 did not alter ventral striatal DA release, suggesting that it did not alter the impulse flow of those subset of dopamine neurons suspected to play a role in sensitization; hence, this is consistent with the lack, or weak, effect of SR-48692 alone on morphine sensitization in the present study.

A previous study has shown that activation of mu receptors in the ventral pallidum stimulates locomotion and that blockade of these receptors prevents the development of morphine sensitization (Johnson and Napier, 2000). This region contains neurotensin (Zahm and Heimer, 1990) and NTS1 receptors and an electrophysiological studies have revealed that a large proportion of ventral pallidal neurons are inhibited by SR-48692 administered systemically at a dose comparable to that used in the present study

(Michaud et al., 2000). Morphine excites and inhibits ventral pallidal neurons and both effects are mediated by mu receptors (Mitrovic and Napier, 1995). An action in the ventral pallidum predicts then that it is the ventral pallidal neurons excited by morphine and inhibited by SR-48692 that play a key role in the development of sensitization morphine, a hypothesis that remains to be determined.

Another important findings is that SR-48692 was effective at attenuating the acute effect of morphine on locomotor activity. This is contrary to what was found in previous studies with amphetamine (Rompré and Perron, 2000; Panayi et al., 2002). That suggests that neurotensin plays a role in morphine- but not amphetamine-induced locomotion, and that this effect is mediated by the NTS1 receptors. For reasons mentioned above, it is unlikely that SR-48692 attenuates the locomotor stimulant effect of morphine by blocking its effect dopamine neurons in the ventral tegmental area. Other possible sites of action are the ventral pallidum (see above) and the nucleus accumbens. When injected directly into the latter nucleus, morphine stimulates locomotion, an effect that do not sensitize with repeated injections (Vezina et al., 1987). But activation of neurotensin receptors in this region does attenuates psychostimulant-induced locomotion, an effect that is opposite to that expected if SR-48692 was acting in that region. Since SR-48692 has differential effect on amphetamine and morphine-induced locomotion, it could be that neurotensin action in the nucleus accumbens produces similar differential effect.

When administered alone, SR-48692 had weak, or no, effect on spontaneous locomotor activity, nor did it greatly alter morphine-induced locomotion following repeated

exposures. These findings are consistent with previous report (Rompré and Perron, 2000) and suggests that neurotensin does not exert a strong tonic modulation upon the neural circuitry that controls expression of locomotor behavior.

The present findings extends previous studies and provide additional evidence that endogenous neurotensin plays a key role in sensitization to some behavioral effects of drugs of abuse. They further support the hypothesis that alterations in central neurotensinergic neurotransmission may contribute to abnormal behaviors such as compulsive drug intake.

Acknowledgements

This work was supported by a grant from the Canadian Institutes of Health Research to PPR. Authors would like to thank Dr. Danielle Gully from Sanofie Recherche (Toulouse, France) for kindly providing samples of SR-48692.

References

- Bjijou, Y., Stinus, L., Le Moal, M. and Cador, M. 1996. Evidence for selective involvement of dopamine D₁ receptors of the ventral tegmental area in the behavioral sensitization induced by intra-ventral tegmental area injections of D- amphetamine. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 277, 1177-1187.
- Boudin, H., Pélaprat, D., Rostène, W. and Beaudet, A. 1996. Cellular distribution of neurotensin receptors in rat brain: Immunohistochemical study using an antipeptide antibody against the cloned high affinity receptor. *J. comp. Neurol.* 373, 76-89.
- Brouard, A., Heaulme, M., Leyris, R., Pelaprat, D., Gully, D., Kitabgi, P., Le, Fur G., Rostene, W. 1994. SR 48692 inhibits neurotensin-induced [3H]dopamine release in rat striatal slices and mesencephalic cultures. *Eur. J. Pharmacol.* 253(3), 289-291.
- Cador, M., Bjijou, Y. and Stinus, L. 1995. Evidence of a complete independence of the neurobiological substrates for the induction and expression of behavioural sensitization to amphetamine. *Neuroscience*, 65, 385-395.
- Fernández, R., Sabater, R., Sáez, J.A., Montes, R., Alba, F., and Ferrer, J.M.R. 1996. Mediation by neurotensin-receptors of effects of neurotensin on self-stimulation of the medial prefrontal cortex. *Br. J. Pharmacol.* 119, 299-302.

Glimcher, P.W., Giovino, A.A., Hoebel, B.G. 1987. Neurotensin self-injection in the ventral -tegmental area. *Brain Res.*, 403, 147-150.

Glimcher, P.W., Margolin, D.H., Giovino, A.A., Hoebel, B.G. 1984. Neurotensin: A new "reward peptide". *Brain Res.* 291, 119-124.

Gully, D., Canton, M., Boigegrain, R., Sanjean, F., Molimard, J.-C., Poncelet, M., Gueudet, C., Heaulme, M., Leyris, R., Brouard, A., Pélaprat, D., Labbé-Jullié, C., Mazella, J., Soubrié, P., Maffrand, J.-P., Rostène, W., Kitabgi, P., and Le Fur, G.. 1993. Biochemical and pharmacological profile of a potent and selctive nonpeptide antagonist of the neurotensin receptor. *PNAS U.S.A.* 90, 65-69.

Gully, D., Jeanjean, F., Poncelet, M., Steinberg, R., Soubrie, P., Le Fur G., Maffrand, J.P. 1995. Neuropharmacological profile of non-peptide neurotensin antagonists. *Fundam. Clin. Pharmacol.* 9(6), 513-521.

Henry, D.J., Wise, R.A., Rompre, P.-P. and White, F.J. 1992. Acute depolarization block of A10 dopamine neurons: Interactions of morphine with dopamine antagonists. *Brain Res.* 596, 231-237.

Johnson, P.I. and Napier, T.C. 2000. Ventral pallidal injections of a mu antagonist block the development of behavioral sensitization to systemic morphine. *Synapse*, 38(1), 61-70.

Kalivas, P.W. and Duffy, P. 1987. Sensitization to repeated morphine injection in the rat: possible involvement of A10 dopamine neurons. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 241(1), 204-212.

Kalivas, P.W. and Duffy, P. 1990. Effect of acute and daily neurotensin and enkephalin treatments on extracellular dopamine in the nucleus accumbens. *J. Neurosci.* 10, 2940-2949.

Koob, G.F. and LeMoal, M. 1997. Drug abuse. Hedonic homeostatic dysregulation. *Science* 278, 52-58.

Koob, G.F. and LeMoal, M. 2001. Drug addiction, dysregulation of reward, and allostasis. *Neuropharmacol.* 24(2), 97-129.

Laitinen, K., Crawley, J.N., Mefford, I.N., and De Witte, Ph. 1990. Neurotensin and cholecystokinin microinjected into the ventral tegmental area modulate microdialysate concentrations of dopamine and metabolites in the posterior nucleus accumbens. *Brain Res.* 523, 342-346.

Leonetti, M., Brun, P., Sotty, F., Steinberg, R., Soubrie, P., Bert, L., Renaud, B., Suaud-Chagny, M.F. The neurotensin receptor antagonist SR 142948A blocks the efflux of dopamine evoked in nucleus accumbens by neurotensin ejection into the ventral tegmental area. *Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 365(6), 427-433.

Lévesque, K., Boye, S.M. and Rompré, P.-P. 2002. Sensitization to the locomotor activating effect of morphine is attenuated by the selective neurotensin antagonist, SR-48692. Soc. Neurosci. Abstr. 89.14.

Michaud, J.C.; Gueudet, C.; Soubrie, P. 2000. Effects of neurotensin receptor antagonists on the firing rate of rat ventral pallidum neurons. Neuroreport, 11(7), 1437-1441.

Mitrovic, I. and Napier, T.C. 1995. Electrophysiological demonstration of mu, delta and kappa opioid receptors in the ventral pallidum. J. Pharmacol. Exp. Ther. 272(3), 1260-1270.

Panayi, F., Dorso, E., Lambas-Senas, L., Renaud, B., Scarna, H. and Berod, A. 2002. Chronic blockade of neurotensin receptors strongly reduces sensitized, but not acute, behavioral response to D-amphetamine. Neuropsychopharmacol. 26(1), 64-74.

Pinnock, R.D. and Woodruff, G.N. 1994. The non-peptide neurotensin receptor antagonist SR48692 is not a potent antagonist of neurotensin(8-13) responses of rat substantia nigra neurones in vitro. Neurosci. Lett., 172, 175-178.

Poncelet, M., Gueudet, C., Gully, D., Soubrié, P., and Le Fur, G. 1994. Turning behavior induced by intrastriatal injection of neurotensin in mice. Sensitivity to non-peptide neurotensin antagonists. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 349, 57-60.

Rompré, P.-P. 1997. Repeated activation of neurotensin receptors sensitizes to the stimulant effect of amphetamine. *European Journal of Pharmacology*, 328, 131-134.

Rompré, P.-P., Boye, S.M. and Moisan, J. 1998. Activation of neurotensin receptors in the prefrontal cortex stimulates midbrain dopamine cell firing. *Eur. J. Pharmacol.*, 341, 169-172.

Rompré, P.-P. and Perron, S. 2000. Evidence for a role of endogenous neurotensin in the initiation of amphetamine sensitization. *Neuropharmacol.* 39(10), 1880-1892.

Seroogy, K.B., Mehta, A., and Fallon, J.H. 1987. Neurotensin and cholecystokinin coexistence within neurons of the ventral mesencephalon. projections to forebrain. *Exp. Brain Res.* 68, 277-289.

Steinberg, R., Brun, P., Fournier, M., Souilhac, J., Rodier, D., Mons, G., Terranova, J.P., Le Fur, G., and Soubrié, P. 1994. SR 48692, a non-peptide neurotensin receptor antagonist differentially affects neurotensin-induced behaviour and changes in dopaminergic transmission. *Neuroscience* 59, 921-929.

Steinberg, R., Rodier, D., Mons, G., Gully, D., Le Fur, G., and Soubrié, P. 1995. SR 49692-sensitive neurotensin receptors modulate acetylcholine release in the rat striatum. *Neuropeptides* 29, 27-31.

St-Gelais, F., Legault, M., Bourque, M.J., Rompre, P.P., Trudeau, L.E. 2004. Role of calcium in neurotensin-evoked enhancement in firing in mesencephalic dopamine neurons. *J. Neurosci.* 24(10), 2566-2574.

Stoessl, A.J. 1995. Effects of neurotensin in a rodent model of tardive dyskinesia. *Neuropharmacology* 34, 457-462.

Studler, J.M., Kitabgi, P., Tramu, G., Hervé, D., Glowinski, J., and Tassin, J.P. 1988. Extensive co-localization of neurotensin with dopamine in rat meso-cortico-frontal dopaminergic neurons. *Neuropeptides* 11, 95-100.

Uhl, G.R., Kuhar, M.J., and Snyder, S.H. 1977. Neurotensin: immunohistochemical localization in rat central nervous system. *Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A.* 74, 4059-4063.

Vezina, P. and Stewart, J. 1989. The effect of dopamine receptor blockade on the development of sensitization to the locomotor activating effects of amphetamine and morphine. *Brain Res.* 499, 108-120.

Vezina, P. and Stewart, J. 1990. Amphetamine administered to the ventral tegmental area but not to the nucleus accumbens sensitizes rats to systemic morphine: lack of conditioned effects. *Brain Res.* 516, 99-106.

Vezina, P., Kalivas, P.W. and Stewart, J. 1987. Sensitization occurs to the locomotor effects of morphine and the specific mu opioid receptor agonist, DAGO, administered repeatedly to the ventral tegmental area but not to the nucleus accumbens. *Brain Res.* 417(1), 51-58.

Vezina,P.; Blanc,G.; Glowinski,J.; Tassin,J.P. 1992. Nicotine and morphine differentially activate brain dopamine in prefrontocortical and subcortical terminal fields: effects of acute and repeated injections. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 261(2), 484-490.

Vincent, J.-P., Mazella, J. and Kitabgi, P. 1999. Neurotensin and neurotensin receptors. *Trends Pharmacol. Sci.* 20(7), 302-309.

Zahm,D.S. and Heimer,L. 1990. Two transpallidal pathways originating in the rat nucleus accumbens. *J. comp. Neurol.* 302(3), 437-446.

Zahm,D.S.; Grosu,S.; Williams,E.A.; Qin,S.; Berod,A. 2001 Neurons of origin of the neurotensinergic plexus enmeshing the ventral tegmental area in rat: retrograde labelling and in situ hybridization combined. *Neuroscience* 104(3), 841-851.

Figure Legends

Fig. 4. Ambulatory activity (expressed as distance in cm travelled within the activity box) measured over four consecutive 30 min periods on day 1 (top panel) and on day 7 (bottom panel) of the training phase. Each bar represents group mean (\pm sem). Different group of rats were injected with either vehicle followed 30 min later by saline (VEH+VEH, $n = 11$), vehicle followed by morphine (VEH+MOR, $n = 10$), 160 $\mu\text{g}/\text{kg}$ of SR-48692 followed by morphine (SR160+MOR, $n = 10$), 320 $\mu\text{g}/\text{kg}$ of SR-48692 followed by morphine (SR320+MOR, $n = 10$), or with 640 $\mu\text{g}/\text{kg}$ of SR-48692 followed by morphine (SR640+MOR, $n = 10$). The ANOVA yielded a significant interaction (day \times treatment \times time, $F_{21,432} = 3.07$ $P < 0.001$). Symbols indicate significant difference with VEH+VEH (* $P < 0.05$), with VEH+MOR (+ $P < 0.05$) or between day 1 and day 7 for the corresponding group and time period (# $P < 0.05$).

Fig. 5. Non-ambulatory activity [expressed as time in sec making movements within the virtual box (see methods)], measured over four consecutive 30 min periods on day 1 (top panel) and on day 7 (bottom panel) of the training phase. The ANOVA yielded a significant interaction (day \times treatment \times time, $F_{21,432} = 2.26$ $P < 0.002$). Symbols indicate significant difference with VEH+VEH (* $P < 0.05$), with VEH+MOR (+ $P < 0.05$) or between day 1 and day 7 for the corresponding group and time period (# $P < 0.05$). See Fig. 4 for details.

Fig. 6. Vertical activity (expressed as total photocells counts) measured over four consecutive 30 min periods on day 1 (top panel) and on day 7 (bottom panel) of the training phase. The ANOVA yielded a significant interaction (day x treatment x time, $F_{21,432} = 2.3$ $P < 0.001$). Symbols indicate significant difference with VEH+VEH (* $P < 0.05$), with VEH+MOR (+ $P < 0.05$) or between day 1 and day 7 for the corresponding group and time period (# $P < 0.05$). See Fig. 4 for details.

Fig. 7. Ambulatory activity measured over four consecutive 30 min periods following a single injection of morphine on day 14 (sensitization test). Legend indicates for each group the drug treatments administered during the training phase. Top panel: vehicle + vehicle (VEH+VEH, $n = 11$), vehicle + morphine (VEH+MOR, $n = 10$), SR-48692 (160 $\mu\text{g}/\text{kg}$) + morphine (SR160+MOR, $n = 10$), SR-48692 (320 $\mu\text{g}/\text{kg}$) + morphine (SR320+MOR, $n = 10$) and SR-48692 (640 $\mu\text{g}/\text{kg}$) + morphine (SR640+MOR, $n = 10$). Bottom panel: vehicle + vehicle (VEH+VEH, $n = 11$), SR-48692 (160 $\mu\text{g}/\text{kg}$) + vehicle (SR160+VEH, $n = 10$), SR-48692 (320 $\mu\text{g}/\text{kg}$) + vehicle (SR320+VEH, $n = 10$) and SR-48692 (640 $\mu\text{g}/\text{kg}$) + vehicle (SR640+VEH, $n = 9$). Stars and crosses indicate statistical significant difference with the VEH+VEH and VEH + MOR group respectively ($P < 0.05$).

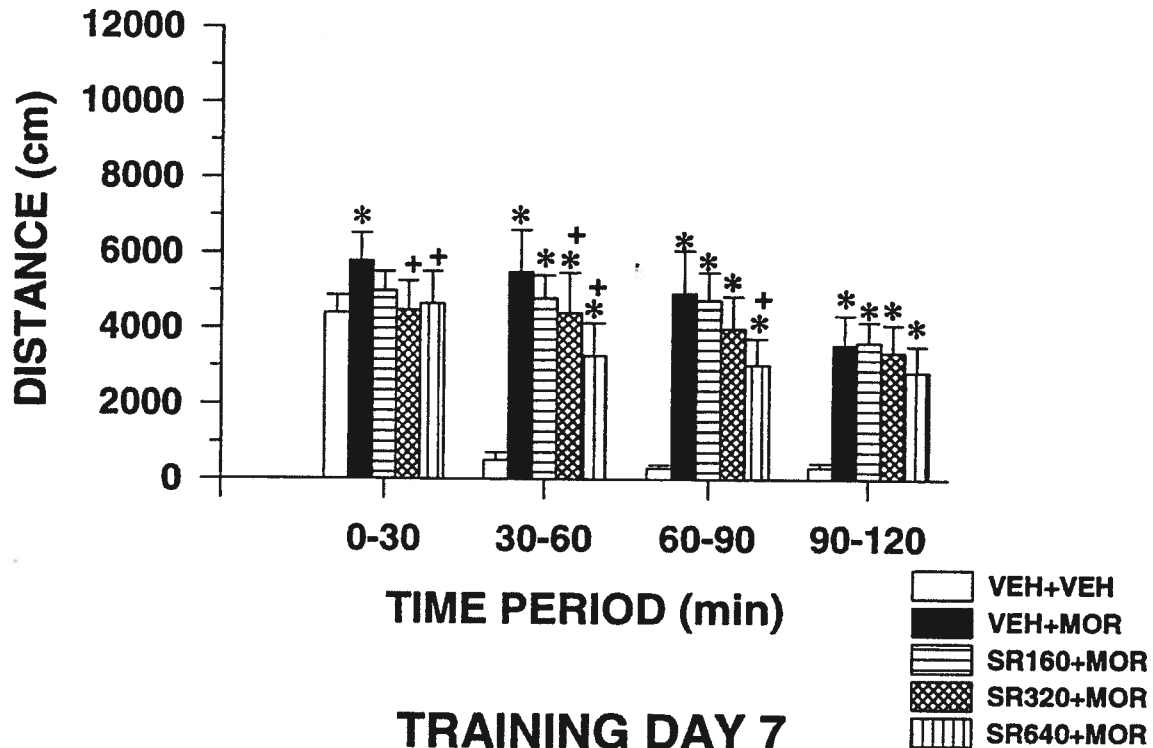
Fig. 8. Non-ambulatory activity measured over four consecutive 30 min periods following a single injection of morphine on day 14 (sensitization test). Stars and crosses indicate statistical significant difference with the VEH+VEH and VEH + MOR group respectively ($P < 0.05$). See Fig. 7 for details.

Fig. 9. Vertical activity measured over four consecutive 30 min periods following a single injection of morphine on day 14 (sensitization test). Stars and crosses indicate

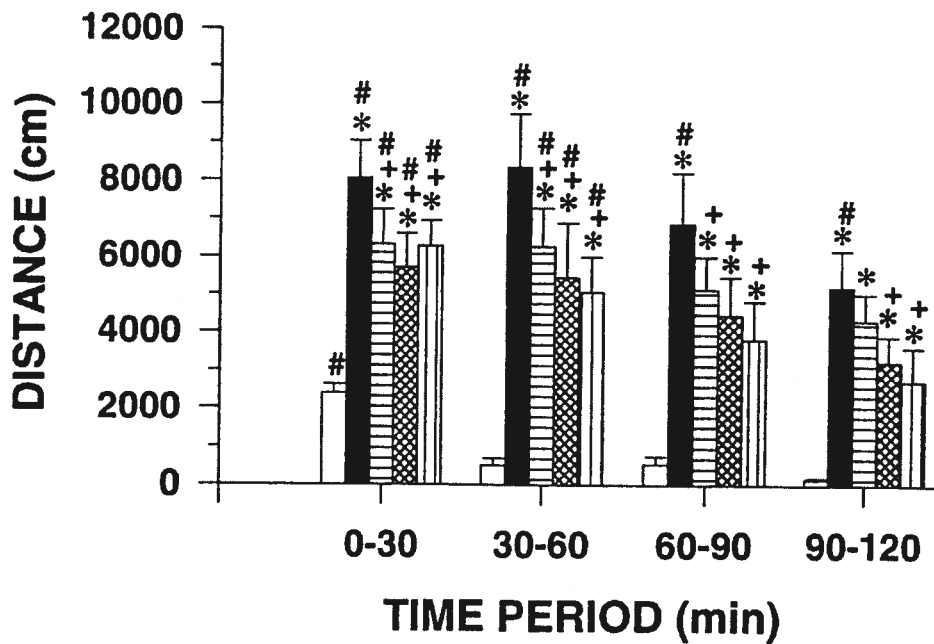
statistical significant difference with the VEH+VEH and VEH + MOR group respectively ($P < 0.05$). See Fig. 7 for details.

AMBULATORY ACTIVITY

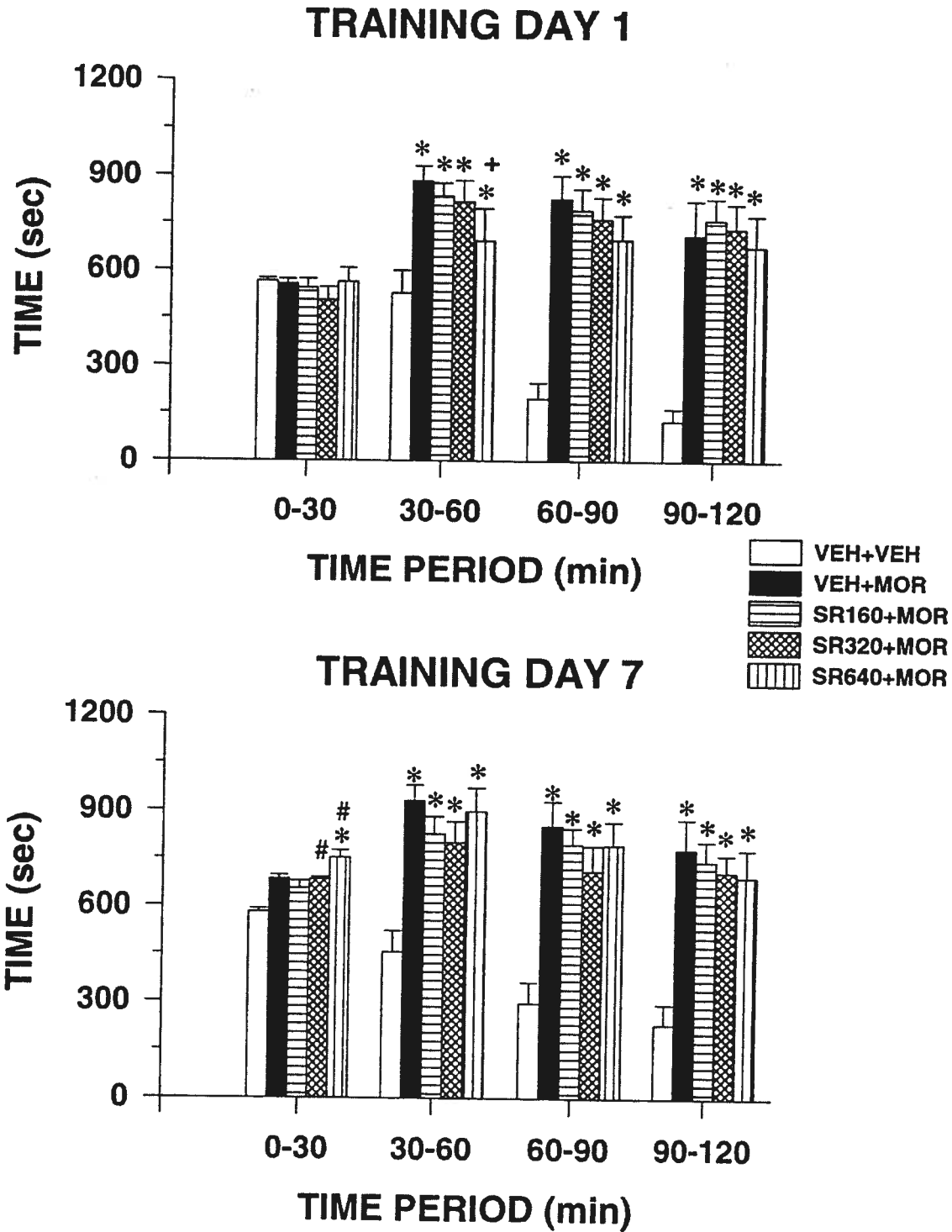
TRAINING DAY 1



TRAINING DAY 7

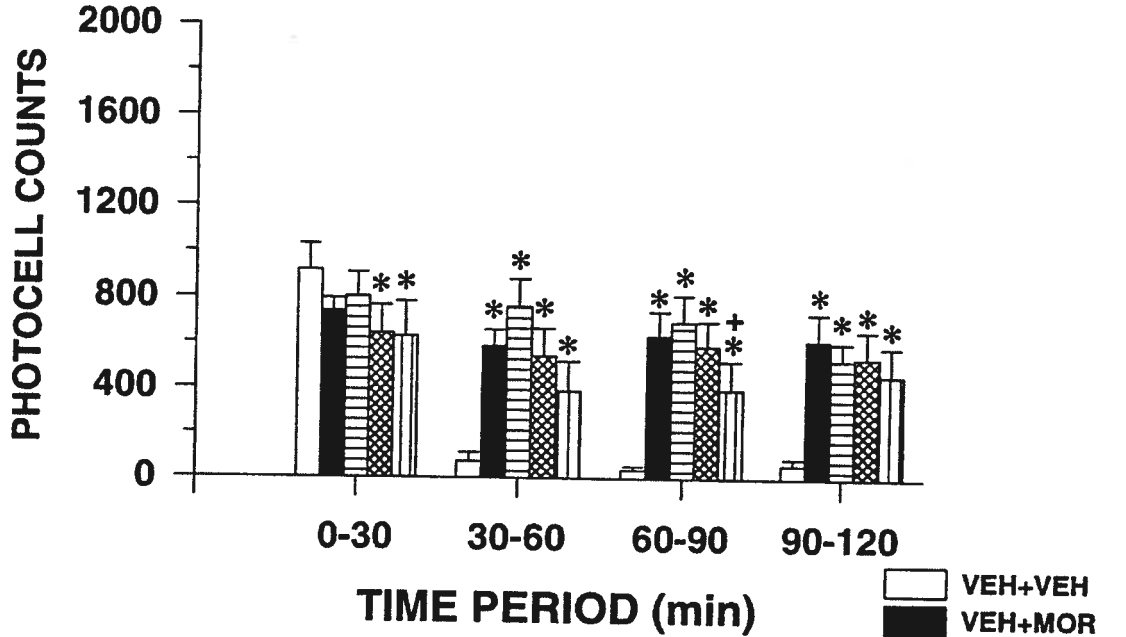


NON-AMBULATORY ACTIVITY

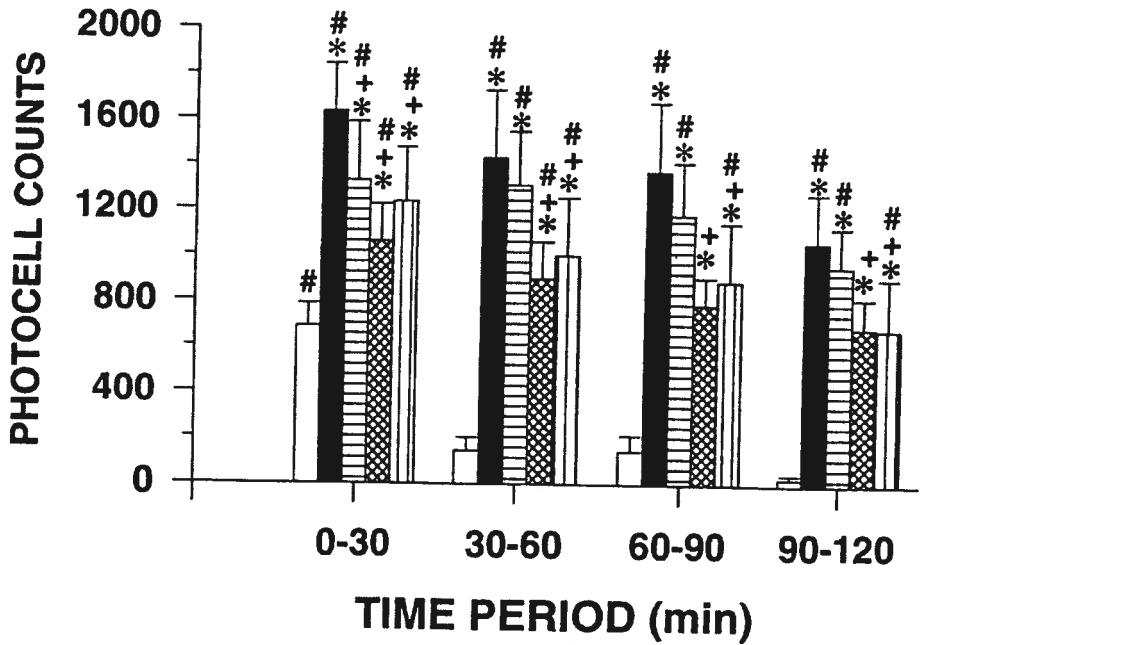


VERTICAL ACTIVITY

TRAINING DAY 1

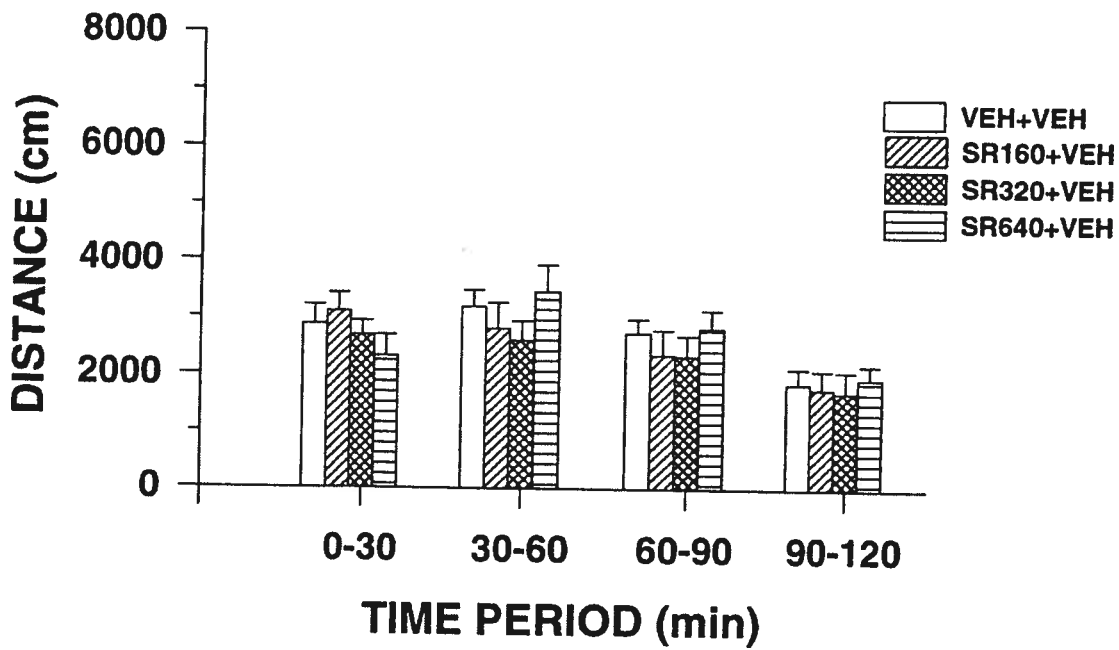
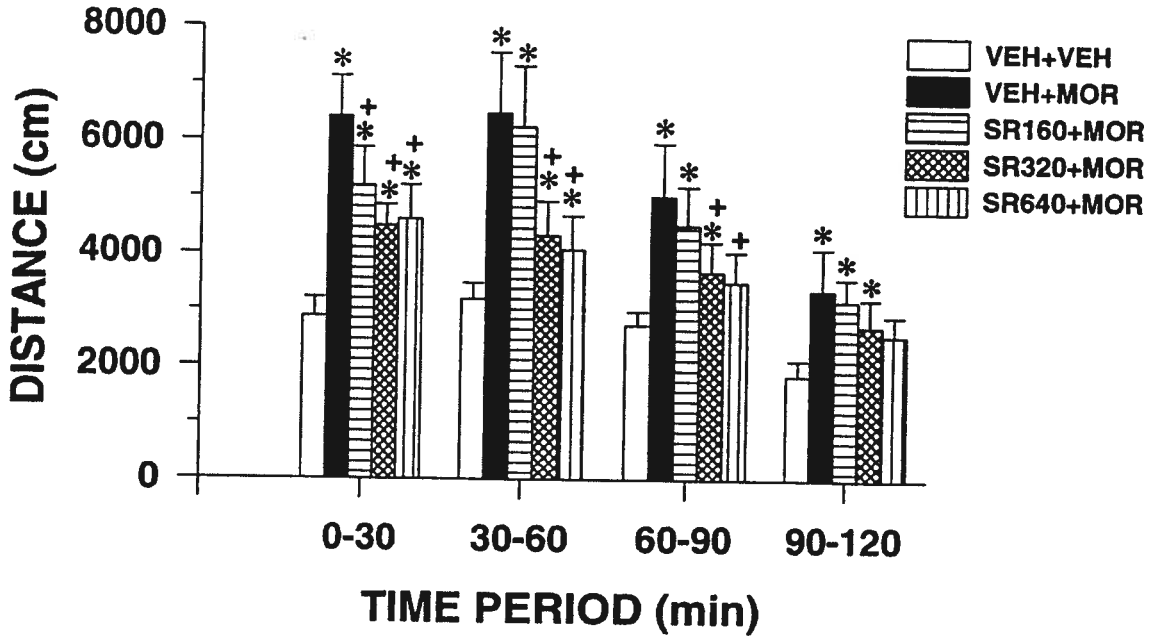


TRAINING DAY 7



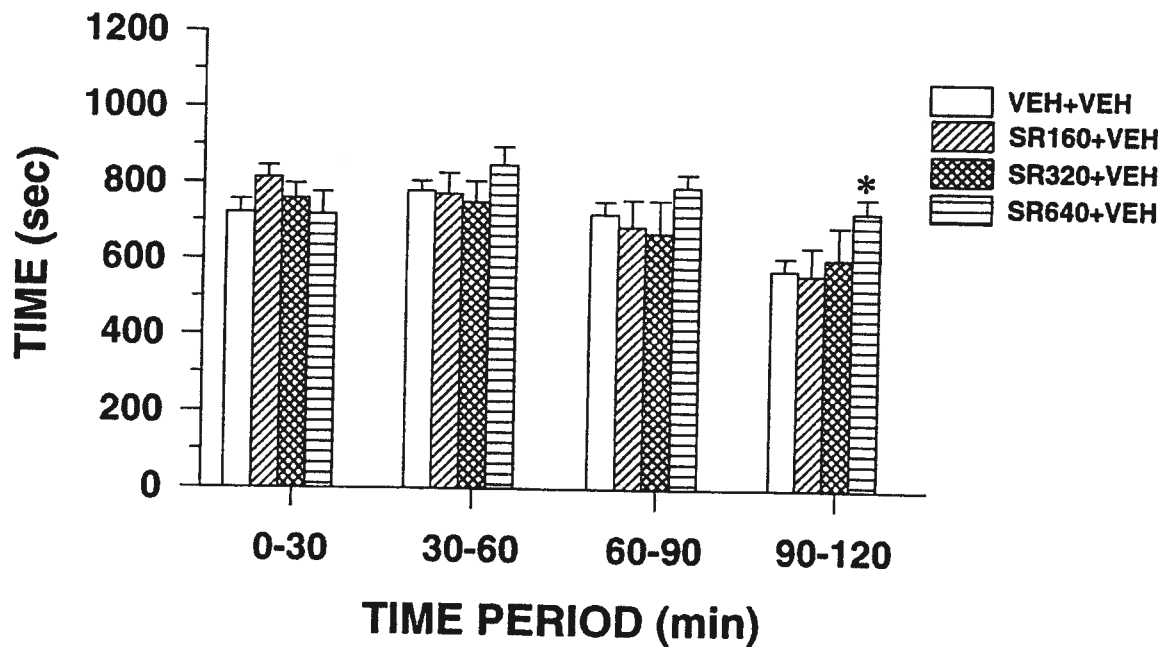
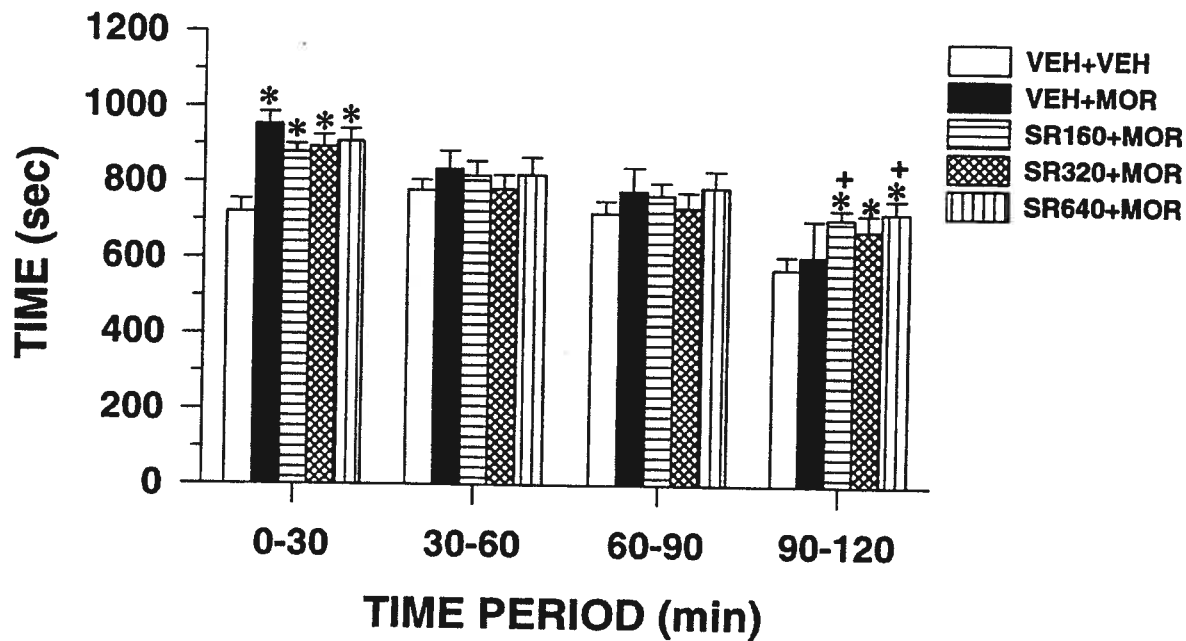
SENSITIZATION TEST

AMBULATORY ACTIVITY



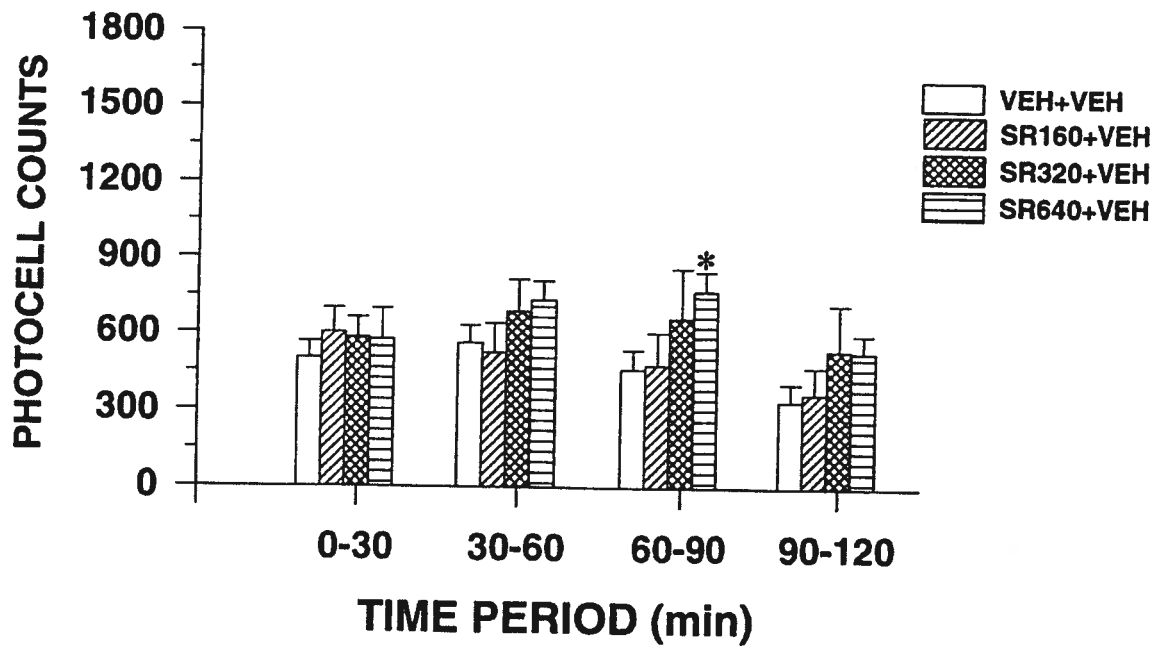
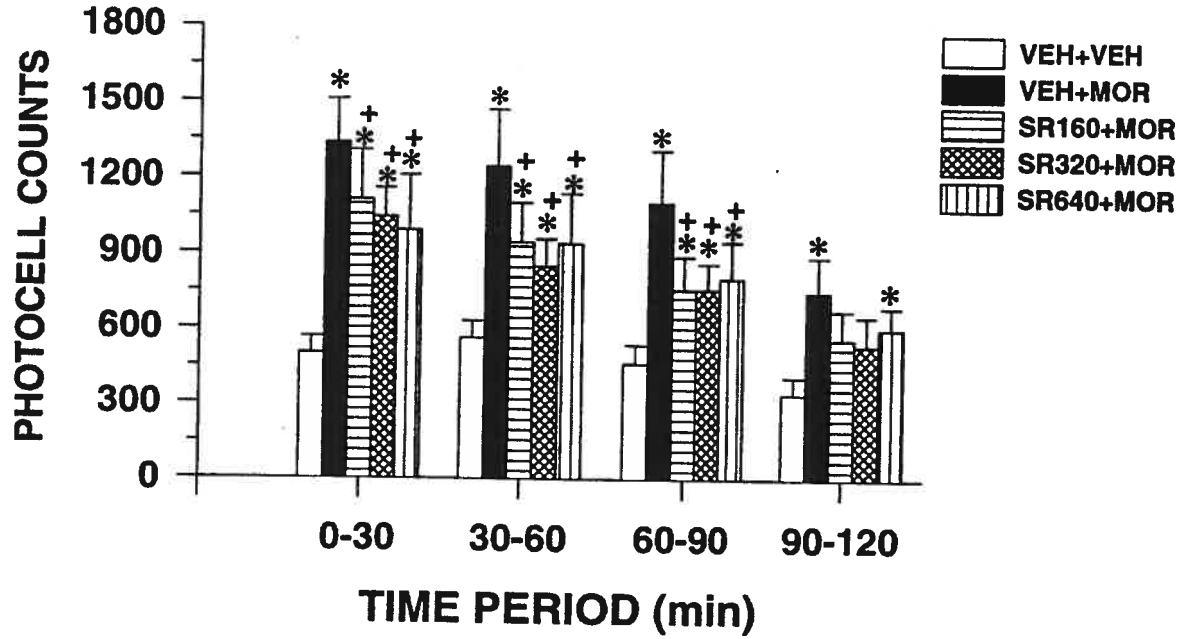
SENSITIZATION TEST

NON-AMBULATORY ACTIVITY



SENSITIZATION TEST

VERTICAL ACTIVITY



3. Conclusions

3.1 Le rôle de la neurotensine dans l'initiation de la sensibilisation comportementale à la morphine

Mon travail de recherche avait pour objectif l'étude du rôle de la neurotensine endogène dans l'initiation de la sensibilisation comportementale à la morphine chez le rongeur. Pour ce faire, durant la phase d'entraînement, des rats ont reçu une injection de l'antagoniste aux récepteurs à la neurotensine, le SR-48692, ou son solvant, suivi 30 minutes plus tard d'une injection de morphine, ou de saline. Immédiatement après la seconde injection, chaque rat était placé dans une enceinte permettant de mesurer les mouvements ambulatoires, verticaux et non-ambulatoires; l'activité locomotrice était mesurée pendant deux heures consécutives. Cette procédure expérimentale a été répétée à tous les deux jours pendant 7 jours. Une semaine après le dernier jour de test de la phase d'entraînement (Jour 14), tous les groupes de rats ont reçu une dose unique de morphine et l'activité locomotrice a été mesurée pendant deux heures (test de sensibilisation). Les résultats démontrent qu'au Jour 1 de la phase d'entraînement le SR-48692 a diminué l'activité ambulatoire induite par la morphine. Au jour 7, la morphine a engendré des mouvements ambulatoires et des mouvements verticaux supérieurs à ceux mesurés au Jour 1. Cette sensibilisation comportementale à la morphine a été atténuée par le SR-48692, et cela de façon dose-dépendante. Au jour 14, lors du test de sensibilisation, les rats pré-exposés à la morphine lors de la phase d'entraînement ont montré un niveau d'activité ambulatoire et d'activité verticale beaucoup plus élevé que les rats pré-exposés à la saline; le développement de cette sensibilisation comportementale à la morphine a été fortement diminué, voire bloqué, par le SR-48692.

3.1.1 L'antagoniste SR-48692 atténue l'activité ambulatoire induite par la morphine.

Au jour 1 de la phase d'entraînement, la morphine a fortement stimulé la locomotion. Contrairement à l'hypothèse de départ, l'administration de SR-48692 a diminué de façon dose-dépendante cette hyperactivation locomotrice induite par la morphine. En effet, les doses de 320 et de 640 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ont toutes deux significativement atténué l'activité ambulatoire chez les rats traités avec la morphine au cours de la première heure et de la première heure et demie, respectivement. Étant donné que le SR-48692 est hautement sélectif pour les récepteurs à neurotensine (Gully et al., 1993), on peut conclure que l'effet inhibiteur résulte de l'inactivation des récepteurs à neurotensine.

Il y a trois régions principales dans le cerveau où la morphine peut agir pour stimuler l'activité locomotrice : l'aire tegmentaire ventrale, le noyau accumbens et le pallidum ventral. Ces régions qui appartiennent au système limbique font partie du circuit neuronal qui contrôle la motivation; la motivation est inférée à partir de l'initiation d'un comportement en réponse à un stimulus environnemental renforçant. La morphine stimulerait la locomotion en inhibant la libération synaptique de GABA dans ces régions limbiques (Johnson et al., 1996; Churchill et al., 1998; Kalivas et al., 1999). En effet, il a été démontré que l'administration d'un agoniste GABAergique dans l'aire tegmentaire ventrale ou dans le pallidum ventral bloque la locomotion induite par

l'injection d'un agoniste aux récepteurs mu dans le pallidum ventral et le noyau accumbens, respectivement (Johnson et al., 1996; Churchill et al., 1998). Cette action anti-GABAergique de la morphine résulte en l'élévation de la fréquence de décharge des cellules à dopamine de l'aire tegmentaire ventrale et en l'augmentation de dopamine extracellulaire dans le noyau accumbens (Kalivas, 1993; Churchill et al., 1998; Erhardt et al., 2002; Fadda et al., 2003). Le cortex préfrontal constitue également un élément important du circuit neuronal impliqué dans le contrôle de la motivation; il peut moduler la locomotion initiée par l'entremise de ses projections (glutamatergiques) vers l'aire tegmentaire ventrale et le noyau accumbens. Fait intéressant, ces régions qui font partie du circuit de la motivation contiennent des récepteurs à la neurotensine (surtout de type 1) (Boudin et al., 1996; Alexander & Leeman, 1998; Fassio et al., 2000; Pickel et al., 2001). De plus, plusieurs neurones dopaminergiques co-localisent la neurotensine dans l'aire tegmentaire ventrale (Bayer et al., 1991). Ceci suggère que ce neuropeptide participe à la locomotion engendrée par la morphine, probablement par des interactions avec la dopamine. Revoyons brièvement la nature, spécifique à la région, de ces interactions dopamine-neurotensine. Dans l'aire tegmentaire ventrale, la neurotensine stimule la neurotransmission dopaminergique probablement en s'opposant à l'autoinhibition des récepteurs D₂ pré-synaptiques (Kalivas & Taylor, 1985; Farkas et al., 1997; Werkman et al., 2000); cet effet a pour conséquence d'augmenter la neurotransmission dopaminergique et par le fait même l'activité ambulatoire. À l'opposé, la neurotensine bloque l'action inhibitrice post-synaptique de la dopamine dans le noyau accumbens (Kalivas et al., 1986; Beauregard et al., 1992; Li et al., 1995). Cet effet antagoniste atténue l'hyperactivité locomotrice induite par l'injection locale d'enképhaline (Kalivas et al., 1984), un peptide opioïde. Les données actuelles indiquent

que la neurotransmission dopaminergique dans le cortex préfrontal exerce un contrôle inhibiteur sur la locomotion, et cela en diminuant la libération de glutamate (Law-Tho et al., 1994; Radcliffe & Erwin, 1996; Harte & O'Connor, 2004). Plusieurs études rapportent que la neurotensine s'oppose à l'action inhibitrice dopaminergique et stimule la neurotransmission glutamatergique dans le cortex préfrontal (Audinat et al., 1989; Beauregard et al., 1992; Ferraro et al., 2000; Antonelli et al., 2002). L'action de la neurotensine favorise donc l'activité ambulatoire dans cette région corticale. Par ailleurs, aucune étude ne fait mention de l'effet de l'application de neurotensine exogène dans le pallidum ventral.

À la lumière de ces connaissances, il semble probable que le SR-48692 ait agi directement dans l'aire tegmentaire ventrale, ou indirectement dans le cortex préfrontal, afin de diminuer la locomotion induite par la morphine. Dans le premier cas, l'antagoniste aurait bloqué la stimulation dopaminergique normalement causée par la neurotensine. L'autorécepteur dopaminergique D_2 aurait donc pu inhiber rapidement la fréquence de décharge des cellules à dopamine ce qui a diminué la libération de dopamine dans le noyau accumbens. Ceci expliquerait l'atténuation de l'activité ambulatoire chez les rats traités avec la morphine et le SR-48692. Une prochaine expérience consistant à injecter l'antagoniste directement dans l'aire tegmentaire ventrale avant l'administration systémique de morphine permettrait de vérifier cette hypothèse.

Une autre possibilité est que l'antagoniste ait plutôt agi dans le cortex préfrontal et moduler indirectement la locomotion, soit par les efférences glutamatergiques vers l'aire tegmentaire ventrale et/ou celles vers le noyau accumbens. Dans l'aire tegmentaire

ventrale, les afférences corticales établissent des connections synaptiques avec les neurones dopaminergiques et non-dopaminergiques (Kalivas, 1993; Sesack et al., 2003). Néanmoins, il a été démontré que l'administration de glutamate dans l'aire tegmentaire ventrale stimule la locomotion ce qui suggère qu'il excite davantage les cellules à dopamine (Suaud-Chagny et al., 1992; Kretschmer et al., 2000; Swanson & Kalivas, 2000). Un raisonnement simple est que le SR-48692 a diminué la locomotion en inhibant la neurotransmission glutamatergique dans le cortex préfrontal. En faveur de cette hypothèse, Fatigati et ses collègues (2000) ont observé que l'application de neurotensine dans le cortex préfrontal augmente la fréquence de décharge des cellules à dopamine et diminue celle des cellules non-dopaminergiques. Allant dans le même sens, d'autres études rapportent que la neurotensine stimule la libération de glutamate dans le cortex préfrontal (Ferraro et al., 2000; Antonelli et al., 2002). Ces effets corticaux de la neurotensine pourraient contribuer à l'augmentation de l'activité locomotrice observée suite à l'administration de morphine. Il est donc plausible que l'administration de l'antagoniste aux récepteurs à neurotensine ait bloqué les efférences excitatrices vers l'aire tegmentaire ventrale et causé ainsi une atténuation de l'activité ambulatoire induite par la morphine. Le cortex préfrontal envoie aussi des efférences glutamatergiques au noyau accumbens (Kalivas, 1983; Sesack & Pickel, 1992; Sesack et al., 2003). Des évidences indiquent que le glutamate module la libération de dopamine dans cette région (Kalivas, 1993; Kretschmer et al., 2000) ce qui pourrait avoir des répercussions sur la locomotion induite par la morphine. Il semble que le glutamate augmente la libération de dopamine par une action pré-synaptique sur les terminaisons dopaminergiques. L'observation que l'injection d'un antagoniste glutamatergique dans le noyau accumbens atténue la stimulation locomotrice induite par l'injection systémique

(s.c.) d'héroïne renforce cette dernière hypothèse (Pulvirenti et al., 1991). L'ensemble de ces données suggèrent que le SR-48692 a atténué la locomotion induite par une injection de morphine par son action dans le cortex préfrontal. L'inhibition de la neurotransmission glutamatergique dans l'aire tegmentaire ventrale et le noyau accumbens a pu diminuer l'activité ambulatoire induite par la morphine. Cette hypothèse pourrait être vérifiée par l'injection de SR-48692 directement dans le cortex préfrontal, ou par la destruction des efférences glutamatergiques, avant l'injection systémique de morphine.

Toutefois, d'autres données empiriques semblent aller à l'encontre des hypothèses proposées précédemment. Contrairement aux études *in vitro*, les expériences faites chez l'animal entier n'ont jamais observé de diminution de la libération de dopamine dans le noyau accumbens suite à une injection unique de SR-48692, et cela même à fortes doses (Steinberg et al., 1994; Brouard et al., 1994; Santucci et al., 1997; Rostène et al., 1997). Or, une des hypothèses proposées impliquent que le SR-48692 produit une diminution de la libération de dopamine dans le noyau accumbens. De plus, advenant le cas que l'antagoniste aurait diminué la libération de dopamine dans le noyau accumbens, il serait difficile d'expliquer pourquoi le SR-48692 n'a eu aucun effet sur la locomotion induite par la cocaïne et l'amphétamine dans des études antérieures (Horger et al., 1994; Rompré & Perron, 2000; Panayi et al., 2002). De plus, Santucci et ses collègues (1997) ont montré au moyen de la technique d'enregistrement électrophysiologique *in vivo* que le SR-48692 injecté par voie systémique (i.p.), ou centrale (le cortex préfrontal), augmente le nombre de cellules actives spontanément dans l'aire tegmentaire ventrale. Il est cependant difficile de tirer une conclusion de cette

étude puisque les auteurs ne précisent pas la nature, dopaminergique ou non-dopaminergique, des cellules enregistrées ni la région du cortex préfrontal dans laquelle les injections ont été effectuées.

Une autre hypothèse serait que la diminution de l'effet excitateur de la morphine sur la locomotion suite à l'administration de SR-48692 résulte de l'état de sur-dépolarisation des neurones dopaminergiques. Ce phénomène survient lorsqu'il y a une surexcitation des cellules à dopamine, celles-ci cessent alors de répondre à tout stimulus excitateur (Grace & Bunney, 1986; Wise, 1989; Grace et al., 1997). L'hypothèse que la morphine et le SR-48692 ont engendré cet état neuronal est basée sur plusieurs observations. D'abord, il a été démontré que la morphine peut causer un état de sur-dépolarisation des neurones dopaminergiques lorsqu'elle est administrée seule, ou conjointement avec un antagoniste dopaminergique tel que le pimozide (Matthews & German, 1984; Henry et al., 1992). Aussi, une autre étude a rapporté que l'antagoniste aux récepteurs à neurotensine peut également engendrer un état de sur-dépolarisation des neurones dopaminergiques de l'aire tegmentaire ventrale (Santucci et al., 1997); ce phénomène a toutefois été observé après à une exposition chronique de SR-48692. Il est possible de croire que le SR-48692 et la morphine ont agi en synergie pour induire un état de sur-dépolarisation des cellules à dopamine. Cette hypothèse est renforcée par les résultats de Santucci et ses collègues (1997) montrant que le SR-48692 stimulent l'activité des cellules à dopamine à des doses supérieures ou égales à 0.3 mg/kg, soit à des doses similaires à celles de la présente étude. Une expérience antérieure avec le SR-48692 combiné à un neuroleptique fournit des résultats qui semblent également appuyer cette hypothèse. En effet, il a été démontré que la combinaison de doses sous-

liminaires d'halopéridol et de SR-48692 résulte en une augmentation du niveau de dopamine extracellulaire; l'antagoniste potentialise donc les effets de l'halopéridol. Il est intéressant de constater que lorsque des doses actives de SR-48692 et d'halopéridol sont co-administrées, il y a diminution du nombre de cellules actives dans l'aire tegmentaire ventrale jusqu'à l'extinction de leur fréquence de décharge. En faveur d'un état de sur-dépolarisation, il a été démontré que 1) cet effet du SR-48692 nécessite l'intégrité des neurones intrinsèques au noyau accumbens et 2) est bloqué par l'administration d'apomorphine (Brun et al., 1995; Santucci et al., 1997; Grace et al., 1997). D'après l'ensemble de ces résultats, il apparaît plausible que la morphine et le SR-48692 puisse engendrer l'état de sur-dépolarisation des cellules à dopamine et ainsi réduire l'activité locomotrice.

Les mécanismes d'action à l'origine de l'état de sur-dépolarisation des cellules à dopamine sont encore mal connus. Grace et Bunney (1986) ont observé que cet état est causé par une trop forte stimulation des neurones. La destruction des neurones intrinsèques au noyau accumbens bloque le développement de cet état de sur-dépolarisation suggérant ainsi leur implication (White & Wang, 1983). Les drogues qui sont capables d'induire un état de sur-dépolarisation partagent un effet commun soit la capacité de stimuler l'activité nerveuse des neurones à dopamine. Cet effet est produit par la morphine qui en hyperpolarisant les cellules GABAergiques qui maintiennent un niveau d'inhibition tonique, désinhibe les neurones dopaminergiques, augmentant ainsi leur taux de décharge. Il est certes possible que les neurones dopaminergiques puissent maintenir une fréquence de décharge élevée en réponse à une stimulation soutenue mais jusqu'à un certain point limite. Une fois cette limite atteinte, les neurones cesseraient

d'être actifs puisqu'il entrerait dans un état de sur-dépolarisation. Cette hypothèse expliquerait l'absence d'effet du SR-48692 sur la locomotion induite par la cocaïne ou par l'amphétamine (Horger et al., 1994; Rompré & Perron, 2000; Panayi et al., 2002). En effet, ces deux substances psychostimulantes augmentent le niveau synaptique de dopamine non pas en augmentant la fréquence de décharge des cellules à dopamine mais en agissant au niveau des terminaisons nerveuse; en fait, ces drogues ont pour effet d'inhiber le taux de décharge des cellules à dopamine (Di Chiara & Imperato, 1988). Cette hypothèse pourrait être testée en administrant un agoniste GABAergique, tel que le muscimol, ou un agoniste dopaminergique, tel que l'apomorphine, à des animaux pré-traités avec la morphine et le SR-48692. Ces deux agents pharmacologiques inhibent le taux de décharge des cellules à dopamine en les hyperpolarisant. Ainsi, lorsque les cellules à dopamine sont "sur-dépolarisées", leur effet hyperpolarisant permet de restaurer le potentiel membranaire basal et de rendre ainsi les cellules sensibles aux stimuli excitateurs. Cette hypothèse prédit que le muscimol augmenterait l'activité locomotrice chez les animaux traités avec la morphine et le SR-48692 alors qu'il l'inhiberait chez des animaux traités avec le solvant.

3.1.2 L'antagoniste diminue, ou bloque, la sensibilisation comportementale à la morphine

Une semaine après le dernier jour de la phase d'entraînement, une dose unique de morphine a été administrée à tous les groupes de rats. Les résultats démontrent que l'activité ambulatoire et l'activité verticale observées chez les rats pré-exposés à la morphine sont statistiquement supérieures à celles observées chez les rats traités avec la

saline. On peut donc conclure que l'exposition intermittente à la morphine a induit un phénomène de sensibilisation à son effet stimulant sur l'activité locomotrice. Les résultats révèlent également que cette sensibilisation a été significativement diminuée, ou bloquée, par le SR-48692. Il est pertinent de mentionner que le SR-48692 a produit une diminution des effets excitateurs de la morphine sur les mouvements ambulatoires et verticaux au Jour 7 de la phase d'entraînement, ce qui suggérait déjà que le blocage des récepteurs à la neurotensine atténuait le développement de la sensibilisation à la morphine.

Plusieurs résultats empiriques portent à croire que l'efficacité avec laquelle le SR-48692 a atténué la sensibilisation comportementale à la morphine résulte de son action antagoniste aux récepteurs à la neurotensine. Les données antérieures confirment que les doses de l'antagoniste SR-48692 utilisées dans la présente étude bloquent efficacement plusieurs effets physiologiques de la neurotensine et que cet agent pharmacologique est hautement sélectif aux récepteurs à neurotensine (Steinberg et al., 1994; Gully et al., 1993; Rostène et al., 1997). D'autre part, l'activité non-ambulatoire des rats exposés au SR-48692 et à la morphine n'a pas été statistiquement différente de celle observée chez le groupe contrôle (morphine seulement) lors du test de sensibilisation, à l'exception des trente dernières minutes. Cette dernière observation nous permet de rejeter la possibilité que la baisse des mouvements ambulatoires et des mouvements verticaux résultent d'une augmentation de l'activité non-ambulatoire. L'ensemble de ces données supporte donc la conclusion que l'activation des récepteurs à neurotensine est requise lors de l'initiation de la sensibilisation comportementale à la morphine.

L'origine de l'hypothèse initiale portant sur le rôle de la neurotensine endogène dans l'initiation de la sensibilisation à la morphine reposait sur l'existence d'une sensibilisation croisée entre l'amphétamine et la morphine. La sensibilisation croisée suggère que ces drogues ont en commun un mécanisme d'action commun impliqué dans l'initiation de la sensibilisation comportementale à leurs effets excitateurs sur la locomotion. La démonstration que la sensibilisation à l'amphétamine est diminuée par la co-administration de SR-48692 suggérait donc la possibilité que la neurotensine joue aussi un rôle dans la sensibilisation à la morphine. Cette hypothèse a été confirmée par les résultats de notre étude. Cette conclusion soulève une nouvelle question à savoir si ce même raisonnement s'applique aux autres substrats neurobiologiques impliqués dans l'initiation de la sensibilisation à l'amphétamine. Pour répondre à cette question, examinons d'abord le cas de l'amphétamine.

Il est bien connu que l'administration d'amphétamine stimule la neurotransmission dopaminergique. Pour ce faire, ce psychostimulant favorise la libération de dopamine et bloque sa recapture. Il en résulte une augmentation du niveau de dopamine extracellulaire dans le noyau accumbens et le cortex préfrontal malgré une diminution de la fréquence de décharge des neurones à dopamine de l'aire tegmentaire ventrale, causée par l'activation des autorécepteurs dopaminergique D_2 . La sensibilisation comportementale se développe suite à des injections d'amphétamine directement dans la région des corps cellulaires de neurones dopaminergiques. Il est généralement accepté que l'élévation de la neurotransmission dopaminergique est au cœur de l'initiation de la sensibilisation à l'amphétamine (Vanderschuren & Kalivas,

2000). Des lésions 6-hydroxydopamines effectuées sur les voies mésolimbiques (vers le noyau accumbens) ou sur les voies mésocorticales (vers le cortex préfrontal) bloquent le développement de la sensibilisation comportementale à l'amphétamine (Bjijou et al., 2002). Ceci suggère que la libération de dopamine dans ces régions est nécessaire pour que la sensibilisation se développe. De plus, l'administration systémique, ou directement dans l'aire tegmentaire ventrale, de l'antagoniste dopaminergique D₁, le SCH 23390, bloque l'initiation de la sensibilisation comportementale à l'amphétamine (Vezina & Stewart, 1989; Kalivas & Stewart, 1991). Les antagonistes dopaminergiques D₂ ont toutefois fourni des résultats ambivalents. Si certains antagonistes tels que l'halopéridol, le némonapride et la clozapine donnent des résultats positifs, plusieurs autres (pimozide, éticlopride, spiperone) n'ont aucun effet sur le développement de la sensibilisation comportementale à l'amphétamine (Vezina & Stewart; 1989; Kalivas & Stewart, 1991). Néanmoins, il est évident que la dopamine joue un rôle déterminant dans l'initiation de la sensibilisation comportementale à l'amphétamine.

L'amphétamine stimule également la sécrétion synaptique de glutamate dans l'aire tegmentaire ventrale. Le rôle de l'activation des récepteurs glutamatergiques de type ionotropique (NMDA et AMPA) par le glutamate dans le contexte de sensibilisation à l'amphétamine a été investigué. Il a été rapporté que l'inactivation des récepteurs NMDA de l'aire tegmentaire ventrale par des antagonistes (par ex. MK-801 et CPP) bloque l'initiation de la sensibilisation comportementale à l'amphétamine (Karler et al., 1989; Cador et al., 1999). Par ailleurs, les données obtenues avec des antagonistes aux récepteurs AMPA sont variables. Certaines expériences rapportent que l'injection d'antagoniste AMPA empêche le développement de la sensibilisation à

l'amphétamine alors que d'autres n'ont obtenu aucun ou peu d'effets sur ce même phénomène. En faveur d'un rôle du glutamate est la démonstration que la destruction des corps cellulaires des neurones du cortex préfrontal médian avec de l'acide iboténique bloque le développement de la sensibilisation à l'amphétamine (Cador et al., 1999). Il apparaît donc que les efférences glutamatergiques, notamment vers l'aire tegmentaire ventrale, sont stimulées lors de l'exposition à l'amphétamine et qu'elles participent au processus d'initiation de la sensibilisation comportementale. L'ensemble de ces données suggèrent que le glutamate tient une place importante dans l'initiation de la sensibilisation comportementale à l'amphétamine.

Plusieurs évidences indiquent que la neurotensine joue un rôle significatif dans la sensibilisation à l'amphétamine. Évidemment, il y a la co-localisation de ce neuropeptide avec la dopamine dans les neurones de l'aire tegmentaire ventrale et sa sécrétion synaptique dans le noyau accumbens et le cortex préfrontal (Gruber et al., 2002); ces deux régions sont impliquées dans la sensibilisation comportementale aux drogues d'abus. Comme nous avons vu précédemment, les effets excitateurs de l'amphétamine sont dépendants de la libération de dopamine, il n'est pas donc étonnant d'apprendre que la stimulation des récepteurs à neurotensine (et, par conséquent, l'augmentation de la neurotransmission dopaminergique) augmente l'hyperactivité locomotrice engendrée par une exposition subséquente à l'amphétamine (Rompré, 1997). Blackburn et ses collègues (2004) ont de plus démontré que cette potentialisation de la sensibilisation est atténuée par des lésions à l'acide iboténique des cellules du cortex préfrontal. Cette dernière étude suggère que les neurones (glutamatergiques) du cortex préfrontal sont impliqués dans l'action de la neurotensine. En faveur de cette hypothèse,

il a été démontré que la stimulation des récepteurs à neurotensine du cortex préfrontal augmente la fréquence de décharge d'une sous-population de neurones dopaminergiques de l'aire tegmentaire ventrale (Fatigati et al., 2000). Finalement, l'administration de l'antagoniste aux récepteurs à neurotensine SR-48692 atténue ou bloque le développement de la sensibilisation comportementale à l'amphétamine (Rompré & Perron, 2000; Panayi et al., 2002). Toutes ces données suggèrent fortement que la neurotensine joue un rôle majeur dans l'initiation de la sensibilisation à l'amphétamine, et que les neurones du cortex préfrontal semble être nécessaire à cette action neurotensinergique.

Tel que mentionné précédemment, l'hypothèse de départ reposait principalement sur l'existence d'une sensibilisation croisée entre l'amphétamine et la morphine. L'examen des substrats neurobiologiques impliqués dans la sensibilisation à l'amphétamine révèle toutefois certaines différences avec ceux impliqués dans la sensibilisation à la morphine. Contrairement à l'amphétamine, l'initiation de la sensibilisation comportementale à la morphine n'est pas entièrement dépendante de l'augmentation de la neurotransmission dopaminergique dans l'aire tegmentaire ventrale. Il a effectivement été rapporté que les antagonistes dopaminergiques ne bloquent pas le développement de la sensibilisation à la morphine (Vezina & Stewart, 1989; Jeziorski & White, 1995; Vanderschuren & Kalivas, 2000);. Cette divergence trouve une explication dans les études de Kalivas et col. (1983; 1985). Cette équipe a démontré que des administrations répétées de DALA, un agoniste aux récepteurs opiacés delta, dans l'aire tegmentaire ventrale résultent en l'augmentation de l'activité locomotrice chez le rat et que cet effet n'est pas bloqué par l'injection systémique d'halopéridol. Ils ont aussi

noté que l'injection de DALA dans l'aire tegmentaire ventral ou dans le noyau accumbens augmente l'activité locomotrice chez le rat, mais que la libération de dopamine est requise, et obligatoire, seulement dans le premier cas. En effet, la locomotion induite par l'injection de DALA dans le noyau accumbens n'est pas affectée par la destruction des projections mésolimbiques dopaminergiques ni par l'injection d'antagoniste dans le noyau accumbens. Il apparaît que les effets excitateurs de la morphine peuvent être engendrés via d'autres neurotransmetteurs que la dopamine. Le fait que d'autres régions que l'aire tegmentaire ventrale où l'on retrouve les corps cellulaires des neurones à dopamine semblent importantes renforcent cette dernière hypothèse. Par exemple, l'injection d'un antagoniste aux récepteurs mu directement dans le pallidum ventral bloque le développement de la sensibilisation comportementale à la morphine (Johnson & Napier, 2000).

Le développement d'une sensibilisation croisée entre l'amphétamine et la morphine n'est pas si clairement établi selon certaines études. Lorsqu'on pré-traite les animaux avec l'amphétamine, l'expression de la sensibilisation à la morphine est observée uniquement lorsque l'amphétamine est injectée directement dans l'aire tegmentaire ventrale (Vezina & Stewart, 1990; Vanderschuren et al., 1999). L'absence de sensibilisation croisée lorsque l'amphétamine est injectée par voie en systémique suggère que l'augmentation de la neurotransmission dopaminergique n'est pas une condition *sin qua non* pour le développement de la sensibilisation à la morphine. Plusieurs traitements bloquent le développement de cette sensibilisation croisée soient l'injection d'un antagoniste dopaminergique, ou glutamatergique, dans l'aire tegmentaire ventrale et la destruction des projections dopaminergiques vers le cortex préfrontal ou

des corps cellulaires du cortex préfrontal (Bjijou et al., 1996; 2002; Cador et al., 1999). Lorsque les rats sont pré-exposés à la morphine, l'injection systémique, directement dans l'aire tegmentaire ventrale ou dans le noyau accumbens, résulte en l'augmentation des effets stimulants de l'amphétamine sur la locomotion (Kalivas, 1985; Vezina et al., 1989; Cunningham et al., 1997). Il est semblable donc possible de croire que la neurotensine représente un dénominateur commun responsable de la sensibilisation croisée entre l'amphétamine et la morphine. Ce neuropeptide est présent dans toutes les régions impliquées dans l'initiation de la sensibilisation à ces deux drogues où il module l'action de la dopamine et la sécrétion synaptique de glutamate, deux neurotransmetteurs jouant un rôle dans ce phénomène (Kalivas & Stewart, 1991; Vanderschuren & Kalivas, 2000). De plus, il a déjà été rapporté que le pré-traitement avec la morphine cause une augmentation de l'activité locomotrice suite à une injection subséquente de neurotensine dans l'aire tegmentaire ventrale (Kalivas, 1985). Il serait donc intéressant de vérifier si le SR-48692 bloque le développement de la sensibilisation croisée entre la morphine et l'amphétamine.

Des études antérieures ont montré que la neurotensine endogène pourrait être impliquée dans la sensibilisation aux psychostimulants tels que la cocaïne et l'amphétamine (Horger et al., 1994; Betancur et al., 1998; Rompré et Perron, 2000; Panayi et al., 2002). Horger et ses collègues (1994) ont montré toutefois que le SR-48692 ralentit le développement de la sensibilisation à la cocaïne mais ne le bloque pas, suggérant ainsi que la neurotensine endogène ne joue pas un rôle important dans ce phénomène. Des facteurs d'ordre méthodologique suggèrent qu'il ne faudrait pas tirer des conclusions hâtives. En effet, Horger et al. n'ont testé qu'une dose unique et

relativement faible (80 µg/kg) de SR-48692. De plus, l'intervalle de temps entre les injections étaient différents de celui que nous avons utilisé dans notre étude (60 vs 30 min.). Enfin, le test de sensibilisation a été effectué 2 et non pas 7 jours après la phase d'entraînement. Finalement, le protocole utilisé par Horger et al. excluait un phénomène de conditionnement classique puisque les animaux n'étaient pas exposés à l'enceinte de test au cours de la période d'entraînement.

Notre expérience a permis d'élargir l'implication de la neurotensine endogène à l'initiation de la sensibilisation comportementale aux opiacés. L'étude des adaptations encourues par le système neurotensinergique pourrait révéler des informations pertinentes sur les conséquences à long-termes d'une exposition chronique aux drogues d'abus, notamment dans la sensibilisation comportementale. Comme nous le verrons dans les prochaines sections, une meilleure connaissance des mécanismes responsables de la sensibilisation comportementale pourrait aussi contribuer à mieux traiter certains aspects de la dépendance aux drogues d'abus.

3.2 Pertinence de l'étude de la sensibilisation dans le contexte de dépendance aux drogues d'abus

L'émergence de nouvelles évidences suggérant que le phénomène de sensibilisation joue un rôle dans l'initiation de la prise de drogue ainsi que dans la rechute renforce davantage sa pertinence dans le phénomène de la dépendance. Effectivement, plusieurs expériences rapportent que ce phénomène est induit lors d'une prise stable et occasionnelle de la drogue et non lors d'une prise compulsive (Zapata et

al., 2003; Ben-Shahar et al., 2004). Par ailleurs, un certains nombres d'études rapportent que le développement de la sensibilisation lors de l'initiation de la consommation jouerait un rôle dans la motivation à rechercher la drogue. À l'aide du modèle d'auto-administration, on a montré que des rats pré-exposés à l'amphétamine sont prêts à produire une réponse opérante plus lourde pour obtenir cette drogue par rapport à des rats pré-exposés à de la saline, et qu'ils en consomment davantage (Mendrek et al., 1998; Vezina et al., 2002; Vezina, 2004; Suto et al., 2004). Cette augmentation de la motivation pour la drogue est accompagnée par une diminution moins rapide des niveaux extracellulaires de dopamine dans le noyau accumbens (Vezina et al., 2002). Il est aussi intéressant de constater que la même région, soit l'aire tegmentale ventrale, et le même protocole d'administration induisent à la fois l'acquisition du comportement d'auto-administration, le développement de la sensibilisation comportementale et l'augmentation de dopamine à l'intérieur du noyau accumbens (Vezina, 2004). Tous ces effets peuvent aussi être bloqués par les mêmes agents pharmacologiques. De façon générale, ces études supportent l'hypothèse que la sensibilisation comportementale se développe lors de l'initiation de la consommation et que sa présence semble étroitement associée à la motivation à rechercher et à prendre la drogue.

D'autres travaux de recherche ont tenté de mettre en lumière le rôle de la sensibilisation comportementale aux drogues d'abus dans la rechute à la consommation de drogues. Suivant le protocole habituel d'extinction du comportement d'auto-administration, il a été rapporté que seuls les rats qui démontraient les signes, ou l'expression, de la sensibilisation comportementale ont recommencé à presser sur le levier pour une nouvelle injection de drogue (De Vries et al., 1998;1999;2002).

L'implication de la dopamine dans ces résultats est suggérée par l'observation que les agonistes dopaminergiques aptes à ré-introduire le comportement d'auto-administration sont les mêmes qui ont entraînés l'expression de la sensibilisation comportementale (De Vries et al., 1998;1999). Des résultats similaires ont été obtenus avec le modèle de conditionnement classique de préférence. Après une longue période d'extinction, une injection unique de drogue a efficacement ré-introduit le comportement d'approche envers l'environnement préalablement associé aux effets de la drogue et ce, exclusivement chez les rats dont la sensibilisation comportementale à la drogue était toujours exprimée (Lu et al., 2002). Quoique limitées, ces quelques expériences établissent une corrélation entre la persistance du phénomène de sensibilisation et la vulnérabilité à la rechute.

L'état des connaissances actuelles suggère fortement que la sensibilisation pourrait être impliquée dans l'initiation de la consommation, en motivant la recherche et la prise de drogue et éventuellement, la rechute. Une meilleure connaissance des mécanismes neurobiologiques responsables du développement de la sensibilisation aux drogues d'abus contribuerait donc à une compréhension plus approfondie de ces caractéristiques du phénomène de dépendance.

3.3 La sensibilisation comportementale aux drogues d'abus chez l'humain, et son rôle dans la rechute.

L'abus de drogue entraîne aussi le développement de la sensibilisation à certains de leurs effets stimulants chez l'humain. Sato (1992) propose que la prise chronique de

méthamphétamine peut causer l'initiation d'une sensibilisation à ces effets psychotiques chez certains individus. Les épisodes psychotiques se caractérisent surtout par de la paranoïa, des délires et des hallucinations auditives. Des évidences suggèrent que cet état psychotique est l'expression d'une sensibilisation causée par la consommation de méthamphétamine. Plusieurs témoignages confirment, par exemple, que suite à l'expérience d'un premier épisode psychotique lors d'une prise de drogue, il y a ré-expression de cet état lors des consommations subséquentes, même après une longue période d'abstinence (jusqu'à 5 ans) ou avec une dose beaucoup moins élevée qu'auparavant (Sato, 1992; Ujike & Sato, 2004). De plus, dans près de la moitié des cas il y a eu récurrence de l'état psychotique sans consommation préalable de méthamphétamine. Cette observation suggère que d'autres facteurs que la ré-exposition à la drogue en soi peuvent déclencher la rechute de l'état psychotique. Une autre étude rapporte aussi ce phénomène et suggère que le stress (causé par l'incarcération par exemple) pourrait être un important facteur de rechute (Yui et al., 1999; Ujike & Sato, 2004). Cette hypothèse est en accord avec les études animales démontrant qu'il y a une sensibilisation croisée entre le stress et les drogues d'abus; fait intéressant, ces deux types de stimulus stimulent le taux de décharge des neurones à dopamines (Kalivas & Stewart, 1991). Il est donc possible que l'expérience d'une situation stressante, et par conséquent l'activation du système dopaminergique, favorise l'expression de l'état psychotique induit par la consommation antérieure de méthamphétamine chez les individus vulnérables (Yui et al., 1999; Saal et al., 2003). Le fait que l'administration d'halopéridol a bloqué la récurrence des épisodes psychotiques chez 8 patients (Sato, 1992; Ujike & Sato, 2004) suggère qu'une hyperactivation du système dopaminergique pourrait effectivement être impliquée dans la sensibilisation à l'état psychotique résultant

de la consommation chronique de méthamphétamine. Dans l'ensemble, ces histoires de cas démontrent l'existence du phénomène de sensibilisation, et sa longue persistance dans le temps, chez l'humain.

D'autres données empiriques sont fournies par les études de Strakowski et al. (1996; 1998). Cette équipe a effectué des expériences visant à observer le développement de la sensibilisation à l'amphétamine chez l'humain à l'aide de critères quantifiables. Un maximum de trois doses d'amphétamines, séparées par un intervalle de 48h, étaient administrées à des volontaires sains. L'injection d'amphétamine a provoqué chez les volontaires une augmentation progressive de certains effets excitateurs (fréquence de clignotement des yeux, élévation de l'activité motrice/énergie) tandis que d'autres effets sont demeurés inaltérés (fréquence du discours). Ces deux études confirment que la prise d'amphétamine cause une augmentation progressive (sensibilisation) de certains effets excitateurs chez l'humain.

Bartlett et al. (1997) ont fourni d'autres évidences en faveur de l'initiation de la sensibilisation suite à l'exposition à un psychostimulant, la cocaïne. Dans cette étude, 40 patients ont identifié les changements (augmentation, diminution ou inchangé) survenus sur différents effets de la cocaïne au cours de leur consommation chronique. Les effets de la cocaïne les plus cités pour leur augmentation progressive sont l'agitation/nervosité (19%) et le délire (11%). L'équipe a ensuite émit l'hypothèse que les patients rapportant le plus d'effets "sensibilisés" de la cocaïne seraient aussi plus souvent ré-hospitalisés, car plus vulnérables à la rechute. Les statistiques, quoique très préliminaires, démontrent

une corrélation significative entre le développement de la sensibilisation aux effets de la cocaïne et la rechute chez l'humain.

En conclusion, notre étude a démontré que la neurotensine endogène joue un rôle dans la sensibilisation comportementale à la morphine. Cette observation indique que l'implication de la neurotensine n'est pas un phénomène restreint à la sensibilisation aux psychostimulants. L'identification de ce neuropeptide comme étant un substrat responsable du développement de la sensibilisation comportementale aux drogues d'abus pourrait s'avérer être une cible pertinente pour le traitement de la dépendance. Ceci dans la mesure où de plus en plus d'expériences animales établissent une corrélation entre la sensibilisation et des aspects majeurs de la dépendance tels que la motivation à consommer et la rechute. De toute évidence, le phénomène de sensibilisation se développe aussi chez l'humain suite à une consommation chronique de drogues d'abus et son implication dans la rechute a de plus été suggéré par une étude. La rechute constitue la plus grande défaillance dans le traitement actuel de la dépendance, 90% des toxicomanes font une rechute suite à une cure de désintoxication. Toutes ces données incitent grandement à l'étude des substrats neurobiologiques impliqués dans la sensibilisation comportementale aux drogues d'abus et pourrait aider à l'élaboration de nouveau traitement visant à prévenir certains aspects de la dépendance, notamment la rechute.

4. Sources documentaires

- Ahmed, S.H. & Koob, G.F. (1998). Transition from moderate to excessive drug intake: change in hedonic set point. *Science*, 282(5387), 298-300.
- Ahmed, S.H., Walker, J.R. et Koob, G.F. (2000). Persistent increase in the motivation to take heroin in rats with a history of drug escalation. *Neuropsychopharmacology*, 22(4), 413-21.
- Alexander, M.J. & Leeman, S.E. (1998). Widespread expression in adult rat forebrain of mRNA encoding high-affinity neurotensin receptor. *The journal of comparative neurology*, 42, 475-500.
- Antonelli, T., Ferraro, L., Fuxe K., Finetti, S., Fournier, J., Tanganelli, S., et al. (2004). Neurotensin enhances endogenous extracellular glutamate levels in primary cultures of rat cortical neurons: involvement of neurotensin receptor in NMDA induced excitotoxicity. *Cerebral cortex*, 14, 466-473.
- Antonelli, T., Tomasini, M.C., Finetti, S., Giardino, L., Calzà L., Fuxe, K., et al. (2002). Neurotensin enhances glutamate excitotoxicity in mesencephalic neurons in primary culture. *Journal of neuroscience research*, 70, 766-773.
- Audinat, E., Hermel, J.M. & Crepel, F. (1989). Neurotensin-induced excitation of neurons of the rat's frontal cortex studied intracellularly in vitro. *Experimental brain research*, 78, 358-68.
- Azzi, M., Betancur, C., Sillaber, I., Spaganel, R., Rostène, W. & Béroed, A. (1998). Repeated administration of neurotensin receptor antagonist SR 48692 differentially regulates mesocortical and mesolimbic dopaminergic systems. *Journal of neurochemistry*, 71, 1158-1167.
- Bartlett, E., Hallin, A., Chapman, B. & Angrist, B. (1997). Selective sensitization to the psychosis-inducing effects of cocaine: a possible marker for addiction relapse vulnerability? *Neuropsychopharmacology*, 16, 77-82.
- Bayer, V.E., Towle, A.C. & Pickel, V.M. (1991). Ultrastructural localization of neurotensin-like immunoreactivity within dense core vesicles in perikarya, but not terminals, colocalizing tyrosine hydroxylase in the rat ventral tegmental area. *The journal of comparative neurology*, 311, 179-196.
- Bean, A.J., During, M.J. & Roth, R.H. (1990). Effects of dopamine autoreceptors stimulation on the release of colocalized transmitters: in vivo release of dopamine and neurotensin from rat prefrontal cortex. *Neuroscience letters*, 108, 143-148.
- Bean, A.J. & Roth, R.H. (1991). Extracellular dopamine and neurotensin in rat prefrontal cortex in vivo: effects of median forebrain bundle stimulation frequency, stimulation pattern, and dopamine autoreceptors. *The journal of neuroscience*, 11(9), 2694-702.

- Beauregard, M., Ferron A. & Descarries, L. (1992). Opposite effects of neurotensin on dopamine inhibition in different regions of the rat brain : an iontophoretic study. *Neuroscience*, 47(3), 613-619.
- Becker, A., Grecksch, G., Brödemann, R., Kraus, J., Peters, B., Schroeder, H., et al. (2000). Morphine self-administration in μ -opioid receptor-deficient mice. *Naunyn-Schmiedeberg archives of pharmacology*, 361, 584-589.
- Ben-Amar, M. & Léonard, L. (2002). Abus, tolérance, pharmacodépendance et sevrage. Dans Les Presses de l'Université de Montréal (Éd.), Les psychotropes: pharmacologie et toxicomanie (pp.1-894). Canada.
- Ben-Shahar, O., Ahmet, S.H., Koob, G.F. & Ettenberg, A. (2004). The transition from controlled to compulsive drug use is associated with a loss of sensitization. *Brain research*, 995, 46-54.
- Betancur, C., Cabrera, R., de Kloet, E.R., Pélaprat, D. & Rostène, W. (1998). Role of endogenous neurotensin in the behavioral and neuroendocrine effects of cocaine. *Neuropsychopharmacology*, 19(4), 322-332.
- Bettler, B. & Mülle, C. (1995). Review: neurotransmitter receptors II AMPA and kainate receptors. *Neuropharmacology*, 34(2), 123-139.
- Binder, E.B. , Kinkead, B., Owens, M.J. & Nemeroff, C.B. (2001). Neurotensin and dopamine interactions. *Pharmacological reviews*, 53(4), 453-486.
- Bjijou, Y., De Deurwaerdere, U., Spampinato, L., Stinus, L. & Cador, M. (2002). D-amphetamine-induced behavioral sensitization : effect of lesioning dopaminergic terminals in the medial prefrontal cortex, the amygdala and the entorhinal cortex. *Neuroscience*, 109(3), 499-516.
- Bjijou, Y., Stinus, L., Le Moal, M. & Cador, M. (1996). Evidence for selective involvement of dopamine D1 receptors of the ventral tegmental area in the behavioral sensitization induced by intra-ventral tegmental area injections of D-amphetamine. *American society for pharmacology and experimental therapeutics*, 277(2), 1177-1187.
- Björklund A. & Lindvall O. (1984). Dopamine-containing systems in the central nervous system. Dans Elsevier (Éd.), Handbook of chemical neuroanatomy (pp. 55-122).
- Blackburn, A., Dewar K., Bauco, P. & Rompré, P.-P. (2004). Excitotoxic lesions of the prefrontal cortex attenuate the potentiation of amphetamine-induced locomotion by repeated neurotensin receptor activation. *Brain research*, 998, 184-193.
- Bodnar, R.J. & Hadjimarkou, M.M. (2002). Endogenous opiates and behavior : 2001. *Peptides*, 23, 2307-2365.

- Boudin, H., Pélaprat, D., Rostène, W. & Beaudet, A. (1996). Cellular distribution of neurotensin receptors in rat brain: immunohistochemical study using an antipeptide antibody against the cloned high affinity receptor. *The journal of comparative neurology*, 373(1), 76-89.
- Boudin, H., Pélaprat, D., Rostène, W., Pickel, V.M. & Beaudet, A. (1998). Correlative ultrastructural distribution of neurotensin receptor proteins and binding sites in the rat substantia nigra. *The journal of neuroscience*, 18 (20), 8473-8484.
- Bozarth, M.A. (1987). Neuroanatomical boundaries of the reward-relevant opiate-receptor field in the ventral tegmental area as mapped by the conditioned place preference method in rats. *Brain research*, 414, 77-84.
- Bozarth, M.A. & Wise, R.A. (1982). Localization of the reward-relevant opiate receptors. *National institute on drug abuse research monograph*, 41, 158-164.
- Bozarth, M.A. & Wise, R.A. (1986). Involvement of the ventral tegmental dopamine system in opioid and psychomotor stimulant reinforcement. *National institute on drug abuse research monograph*, 67, 190-6.
- Brouard, A., Heaulme, M., Leyris, R., Pelaprat, D., Gully, D., Kitabgi, P., et al. (1994). SR 48692 inhibits neurotensin-induced [³H]dopamine release in rat striatal slices and mesencephalic cultures. *European journal of pharmacology*, 253, 289-291.
- Brun, P., Steinberg, R., Le Fur, G. & Soubrié, P. (1995). Blockade of neurotensin receptor by SR 48692 potentiates the facilitatory effect of haloperidol on the evoked in vivo dopamine release in the rat nucleus accumbens. *Journal of neurochemistry*, 64, 2073-2079.
- Cador, M., Bjjou, Y., Cailhol, S. & Stinus, L. (1999). D-amphetamine-induced behavioral sensitization: implication of a glutamatergic medial prefrontal cortex-ventral tegmental area innervation. *Neuroscience*, 94(3), 705-721.
- Cador, M., Bjjou, Y. & Stinus, L. (1995). Evidence of a complete independence of the neurobiological substrates for the induction and expression of behavioral sensitization to amphetamine. *Neuroscience*, 65(2), 385-395.
- Cador, M., Kelley A.E., Le Moal, M. & Stinus, L. (1985). Behavioral analysis of the effect of neurotensin injected into the ventral mesencephalon on investigatory and spontaneous motor behavior in the rat. *Psychopharmacology*, 85, 187-196.
- Caillé, S., Espejo, E.F., Reneric, J.P., Cador, M., Koob, G.F. et Stinus, L. (1999). Total neurochemical lesion of noradrenergic neurons of the locus ceruleus does not alter either naloxone-precipitated or spontaneous opiate withdrawal nor does it influence ability of clonidine to reverse opiate withdrawal. *Journal of pharmacology and experimental Therapeutics*, 290(2), 881-92.

- Carlezon, W.A., Jr., Boundy, V.A., Haile, C.N., Lane, S.B., Kalb, R.G., Neve, R.L. & Nestler, E.J. (1997). Sensitization to morphine induced by viral-mediated gene transfer. *Science*, 277, 812-814.
- Carlezon, W.A. Jr. & Nestler, E.J. (2002). Elevated levels of GluR1 in the midbrain: a trigger for sensitization to drugs of abuse? *Trends in neurosciences*, 25(12), 610-615.
- Carlezon, W.A. Jr., Rasmussen, K. & Nestler, E.J. (1999). AMPA antagonist LY293558 blocks the development, without blocking the expression, of behavioral sensitization to morphine. *Synapse*, 31, 256-262.
- Churchill, L., Klitenick, M.A. & Kalivas, P.W. (1998). Dopamine depletion reorganizes projections from the nucleus accumbens and ventral pallidum that mediate opioid-induced motor activity. *The journal of neuroscience*, 18(19), 8074-8085.
- Contarino, A., Picetti, R., Matthes, H.W., Koob, G.F., Kieffer, B.L. & Gold, L.H. (2002). Lack of reward and locomotor stimulation induced by heroin in μ -opioid receptor-deficient mice. *European journal of pharmacology*, 446, 103-109.
- Crombag, H.S. & Shaham, Y. (2002). Renewal of drug seeking by contextual cues after prolonged extinction in rats. *Behavioral neuroscience*, 116(1), 169-73.
- Cunningham, S.T., Finn, M. & Kelley, A.E. (1997). Sensitization of the locomotor response to psychostimulants after repeated opiate exposure : role of the nucleus accumbens. *Neuropsychopharmacology*, 16(2), 147-155.
- Delle Donne, K.T., Chan, J., Boudin, H., Pélaprat, D., Rostène, W. & Pickel, V.M. (2004). Electron microscopic dual labeling of high-affinity neurotensin and dopamine D₂ receptors in the rat nucleus accumbens shell. *Synapse*, 52, 176-187.
- Delle Donne, K.T., Sesack, S.R. & Pickel, V.M. (1996). Ultrastructural immunocytochemical localization of neurotensin and the dopamine D₂ receptor in the rat nucleus accumbens. *The journal of comparative neurology*, 371, 552-566.
- Devine, D.P. & Wise, R.A. (1994). Self-administration of morphine, DAMGO, and DPDPE into the ventral tegmental area of rats. *The journal of neuroscience*, 14(4), 1978-1984.
- De Vries, T.J., Schoffelmeer, A.N.M., Binnekade, R., Mulder, A.H. & Vanderschuren, L.J.M.J. (1998). Drug-induced reinstatement of heroin- and cocaine-seeking behaviour following long-term extinction is associated with expression of behavioral sensitization. *European journal of neuroscience*, 10, 3565-3571.
- De Vries, T.J., Schoffelmeer, A.N.M., Binnekade, R., Mulder, A.H. & Vanderschuren, L.J.M.J. (1999). Dopaminergic mechanisms mediating the incentive to seek cocaine and heroin following long-term withdrawal of IV drug self-administration. *Psychopharmacology*, 143, 254-260.

De Vries, T.J., Schoffelmeer, A.N.M., Binnekade, R., Raaso, H. & Vanderschuren, L.M.J.M. (2002). Relapse to cocaine- and heroin-seeking behavior mediated by dopamine D2 receptors is time-dependent and associated with behavioral sensitization. *Neuropsychopharmacology*, 26(1), 18-26.

De Vries, T.J. & Shippenberg, T.S. (2002). Neural Systems Underlying Opiate Addiction. *The journal of neuroscience*, 22(9), 3321-3325.

Diaz-Cabiale, Z., Fuxe, K., Narváez, J.A., Finetti, S., Antonelli, T., Tanganelli, S. & Ferraro, L. (2002). Neurotensin-induced modulation of dopamine D2 receptors and their function in rat striatum: Counteraction by a NTR1-like receptor antagonist. *Neuroreport*, 13(6), 763-766.

Di Chiara, G. & Imperato, A. (1988). Drugs abused by humans preferentially increase synaptic dopamine concentrations in the mesolimbic system of freely moving rats. *Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America*, 85, 5274-5278.

Di Chiara, G. & North, R.A. (1992). Neurobiology of opiate abuse. *Trends in pharmacological sciences*, 13(5), 185-193.

Dilts, R.P. & Kalivas, P.W. (1989). Autoradiographic localization of mu-opioid and neurotensin receptors within the mesolimbic dopamine system. *Brain research*, 488(1-2), 311-27.

Drumheller, A.D., Gagné, M.A., St-Pierre, S. & Jolicoeur, F.B. (1990). Effects of neurotensin on regional brain concentrations of dopamine, serotonin and their main metabolites. *Neuropeptides*, 15, 169-178.

During, M.J., Bean, A.J. & Roth, R.H. (1992). Effects of CNS stimulants on the in vivo release of the colocalized transmitters, dopamine and neurotensin, from the rat prefrontal cortex. *Neuroscience letters*, 140, 129-133.

Erhardt, S., Mathé, J.M., Chergui, K., Engberg, G. & Svensson, T.H. (2002). GABA_B receptor-mediated modulation of the firing pattern of ventral tegmental area dopamine neurons in vivo. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*, 365, 173-180.

Fadda, P., Sherma, M., Fresu, A., Collu, M. & Fratta, W. (2003). Baclofen antagonizes nicotine-, cocaine-, and morphine-induced dopamine release in the nucleus accumbens of rats. *Synapse*, 50, 1-6.

Farkas, R.H., Chien, P.-Y., Nakajima, S. & Nakajima, Y. (1997). Neurotensin and dopamine D2 activation oppositely regulate the same K⁺ conductance in rat midbrain dopaminergic neurons. *Neuroscience letters*, 231, 21-24.

- Fassio, A., Evans, G., Grisshammer, R., Bolam, J.P., Mimmack, M. & Emson, P.C. (2000). Distribution of the neurotensin receptor NTS1 in the rat CNS studied using a amino-terminal directed antibody. *Neuropharmacology*, 39, 1430-1442.
- Fatigati, M.D., Anderson, R.M. & Rompré, P.-P. (2000). Effects of prefrontal cortex microinjection of neurotensin-(8-13) on midbrain dopamine and non-dopamine cell firing. *Brain research*, 876, 196-200.
- Feldman, R.S., Meyer, J.S. et Quenzer, L.F. (1997). The opiates. Dans Sinauer Associates, Inc., Principles of neuropsychopharmacology (pp.1-909). Massachusetts.
- Ferraro, L., Tomasini, M.C., Siniscalchi, A., Fuxe, K., Tanganelli, S. & Antonelli, T. (2000). Neurotensin increases endogenous glutamate release in rat cortical slices. *Life sciences*, 66(10), 927-936.
- Fischer, B., Medved, W., Kirst, M., Rehm J. & Gliksman, L. (2001). Illicit opiates and crime: results of an untreated user cohort in Toronto. *Canadian journal of criminology*, 43(2), 197-217.
- Ford, A.P.D.W. & Marsden, C.A. (1990). In vivo neurochemical and behavioral effects of intracerebrally administered neurotensin and D-Trp¹¹- neurotensin on mesolimbic and nigrostriatal dopaminergic function in the rat. *Brain research*, 534, 243-250.
- Garžon, M. & Pickel, V.M. (2002). Ultrastructural localization of enkephalin and μ -opioid receptors in the rat ventral tegmental area. *Neuroscience*, 114(2), 461-474.
- Goeders, N.E. (2003). The impact of stress on addiction. *European Neuropsychopharmacology*, 13, 435-441.
- Grace, A.A. & Bunney, B.S. (1986). Induction of depolarization block in midbrain dopamine neuron repeated administration of haloperidol: analysis using in vivo intracellular recording. *The journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 238(3), 1092-1100.
- Grace, A.A., Bunney, B.S., Moore, H. & Todd, C.L. (1997). Dopamine-cell depolarization block as a model for the therapeutic actions of antipsychotic drugs. *Trends in neurosciences*, 20(1), 31-37.
- Gracy, K.N., Dankiewicz, L.A., Weiss, F. & Koob, G.F. (2000). Heroin-specific stimuli reinstate operant heroin-seeking behavior in rats after prolonged extinction. *Pharmacology biochemistry and behavior*, 65(3), 489-494.
- Grobin, A.C. & Deutch, A.Y. (1998). Dopaminergic regulation of extracellular γ -aminobutyric acid levels in the prefrontal cortex of the rat. *The journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 285, 350-357.

Gruber, S.H.M., Nomikos, G.G. & Mathé, A.A. (2002). D-amphetamine-induced increase in neurotensine and neuropeptide Y outflow in the ventral striatum is mediated via stimulation of dopamine D₁ and D_{2/3} receptors. *Journal of neuroscience research*, 69, 133-139.

Gully, D., Canton, M., Boigegrain, R., Jeanjean, F., Molimard, J.-C., Poncelet, M., et al. (1993). Biochemical and pharmacological profile of a potent and selective nonpeptide antagonist of the neurotensin receptor. *Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America*, 90, 65-69.

Gysling, K. & Wang, R.Y. (1983). Morphine-induced activation of A10 dopamine neurons in the rat. *Brain research*, 277, 119-127.

Harte, M. & O'Connor, W.T. (2004). Evidence for a differential medial prefrontal dopamine D₁ and D₂ receptor regulation of local and ventral tegmental glutamate and GABA release: A dual probe microdialysis study in the awake rat. *Brain research*, 1017, p.120-129.

Hakan, R.L. & Henriksen, S.J. (1989). Opiate influences on nucleus accumbens neuronal electrophysiology: dopamine and non-dopamine mechanisms. *The journal of neuroscience*, 9 (10), 3538-3546.

Heaulme, M., Leyris, R., Le Fur, G. & Soubrie, P. (1997). Involvement of potentially distinct neurotensin receptors in neurotensin-induced stimulation of striatal [³H] dopamine release evoked by KCl versus electrical depolarization. *Neuropharmacology*, 36(10), 1447-1454.

Henry, D.J., Wise, R.A., Rompré, P.-P. & White, F.J. (1992). Acute depolarization block of A10 dopamine neurons: interactions of morphine with dopamine antagonists. *Brain research*, 596, 231-237.

Horger, B.A., Taylor, J.R., Elsworth, J.D. & Roth, R.H. (1994). Preexposure to, but not cotreatment with, the neurotensin antagonist SR 48692 delays the development of cocaine sensitization. *Neuropsychopharmacology*, 11(3), 215-222.

Hser, Y.I., Hoffman, V., Grella, C.E. & Anglin, M.D. (2001). A 33-year follow-up of narcotics addicts. *Archives of general psychiatry*, 58, 503-508.

Hyman, S.E. & Malenka, R.C. (2001). Addiction and the brain: the neurobiology of compulsion and its persistence. *Nature reviews*, 2, 695-703.

Jeziorski, M. & White, F. (1995). Dopamine receptor antagonists prevent expression, but not development, of morphine sensitization. *European journal of pharmacology*, 275, 235-244.

- Jeziorski, M., White, F. & Wolf, M.E. (1994). MK-801 prevents the development of behavioral sensitization during repeated morphine administration. *Synapse*, 16(2), 137-147.
- Johnson, K., Churchill, L., Klitenick, M.A., Hooks, M.S. & Kalivas, P.W. (1996). Involvement of the ventral tegmental area in locomotion elicited from the nucleus accumbens or ventral pallidum. *Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 277(2), 1122-1131.
- Johnson, P.I. & Napier, T.C. (2000). Ventral pallidal injections of a *mu* antagonist block the development of behavioral sensitization to systemic morphine. *Synapse*, 38, 61-70.
- Johnson, S.W. & North R.A. (1992). Opioids excite dopamine neurons by hyperpolarization of local interneurons. *The journal of neuroscience*, 12(2), 483-488.
- Johnson, S.W., Seutin, V. & North R.A. (1992). Burst firing in dopamine neurons induced by N-methyl-D-aspartate: role of electrogenic sodium pump. *Science*, 258(5082), 665-7.
- Joyce, E.M. & Iversen, S.D. (1979). The effect of morphine applied locally to mesencephalic dopamine cell bodies on spontaneous motor activity in the rat. *Neuroscience letters*, 14, 207-212.
- Kalivas, P.W. (1985). Sensitization to repeated enkephalin administration into the ventral tegmental area of the rat. II. Involvement of the mesolimbic dopamine system. *The journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 235(2), 544-550.
- Kalivas, P.W. (1993). Neurotransmitter regulation of dopamine neurons in the ventral tegmental area. *Brain research reviews*, 18, 75-113.
- Kalivas, P.W., Churchill, L. & Romanides, A. (1999). Involvement of the pallidal-thalamocortical circuit in adaptive behavior. *Annals of the New York academy of sciences*, 877(1), 64-70.
- Kalivas P.W. & Duffy P. (1987). Sensitization to repeated morphine injection in the rat: possible involvement of A10 dopamine neurons. *The journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 241(1), 204-212.
- Kalivas P.W. & Duffy P. (1990). Effect of acute and daily neurotensin and enkephalin treatments on extracellular dopamine in the nucleus accumbens. *The journal of neuroscience*, 10(9), 2940-2949.
- Kalivas, P.W., Nemeroff, C.B. & Prange, A.J., Jr (1984). Neurotensin microinjection into the nucleus accumbens antagonizes dopamine-induced increase in locomotion and rearing. *Neuroscience*, 11(4), 919-930.

- Kalivas P.W., Richardson-Carlson, R. & Duffy P. (1986). Neuromedin N mimics the actions of neurotensin in the ventral tegmental area but not in the nucleus accumbens. *The journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 238(3),1126-1131.
- Kalivas, P.W. & Stewart, J. (1991). Dopamine transmission in the initiation and expression of drug- and stress-induced sensitization of motor activity. *Brain research reviews*, 16, 223-244.
- Kalivas, P.W. & Taylor, S. (1985). Behavioral and neurochemical effects of daily injection with neurotensin into the ventral tegmental area. *Brain Research*, 358, 70-76.
- Kalivas, P.W., Widerlöv, E., Stanley, D., Breese, G. & Prange, A.J., Jr. (1983). Enkephalin action on the mesolimbic system : a dopamine-dependent and a dopamine-independent increase in locomotor activity. *The journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 227(1), 229-237.
- Kaplan, G.B., Leite-Morris, K.A., Joshi, M., Shoeb, M.H. & Carey, R.J. (2003). Baclofen inhibits opiate-induced conditioned place preference and associated induction of Fos in cortical and limbic regions. *Brain research*, 987,122-125.
- Karler, R., Calder, L.D., Chaudhry, I.A. & Turkanis, S.A. (1989). Blockade of "reverse tolerance" to cocaine and amphetamine by MK-801. *Life sciences*, 45(7), 599-606.
- Kieffer, B.L. (2000). Opioid receptors: from genes to mice. *The journal of pain*, 1(3), 45-50.
- Kiyatkin, E.A. & Rebec, G.V. (2001). Impulse activity of ventral tegmental area neurons during heroin self-administration in rats. *Neuroscience*, 102(3), 565-580.
- Kosten, T.A. & Bombace, J.C. (2000). Prior and delayed applications of dizocilpine or ethanol alter locomotor sensitization to morphine. *Brain research*, 878, 20-31.
- Koob, G.F. (1992). Drugs of abuse: anatomy, pharmacology and function of reward pathways. *Trends in pharmacological sciences*, 13, 177-184.
- Koob, G.F. (2000). Neurobiology of addiction, toward the development of new therapies. *Annals of the New York academy of sciences*, 909, 170-85.
- Koob, G.F. & Le Moal, M. (1997). Drug abuse: hedonic homeostatic dysregulation. *Science*, 278, 52-58.
- Koob, G.F. & Le Moal, M. (2001). Drug addiction, dysregulation of reward and allostasis. *Neuropsychopharmacology*, 24(2), 97-129.
- Koob, G.F., Sanna P.P. & Bloom, F.E. (1998). Neuroscience of addiction. *Neuron*, 21(3), 467-76.

- Kretschmer, B.D., Goiny, M. et Herrera-Marschitz, M. (2000). Effect of intracerebral administration of NMDA and AMPA on dopamine and glutamate release in the ventral pallidum on motor behavior. *Journal of neurochemistry*, 74, 2049-2057.
- Labbé-Jullié, C., Dubuc, I., Brouard, A., Doulut, S., Bourdel, E., Pélaprat, D., et al. (1994). *In vivo* and *in vitro* structure-activity studies with peptide and pseudopeptide neurotensin analogs suggest the existence of distinct central neurotensin receptor subtypes. *The journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 268(1), 328-336.
- Law-Tho, D., Hirsch, J.C. & Crepel, F. (1994). Dopamine modulation of synaptic transmission in rat prefrontal cortex: an *in vitro* electrophysiological study. *Neuroscience research*, 21(2), 151-160.
- Legault, M., Congar, P., Michel F.J. & Trudeau, L.E. (2002). Presynaptic action of neurotensin on cultured ventral tegmental area dopaminergic neurones. *Neuroscience*, 111(1), 177-87.
- Leite-Morris, K.A., Fukudome, E.Y., Shoeb, M.H. & Kaplan, G.B. (2004). GABA_B receptor activation in the ventral tegmental area inhibits the acquisition and expression of opiate-induced motor sensitization. *The journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 308, 667-678.
- Léonard, L. & Vallée, R. (2002). Opiacés. Dans Les Presses de l'Université de Montréal (Éd.), *Les psychotropes: pharmacologie et toxicomanie* (pp.1-894). Canada.
- Levinthal, C.F. (1996). The major narcotics: opium, morphine and heroin. Dans Allyn and Bacon (Éd.), *Drugs, behavior, and modern society* (pp.1-431). Massachusetts.
- Li, X.M., Ferraro, L., Tanganelli, S., O'Connor, W.T., Hasselrot, U., Ungerstedt, U. & Fuxe, K. (1995). Neurotensin peptides antagonistically regulate postsynaptic dopamine D2 receptors in rat nucleus accumbens: a receptor binding and microdialysis study. *Journal of neural transmission. General section*, 102(2), 125-37.
- Longoni, R., Spina, L., Mulas, A., Carboni, E., Garau, L., Melchiorri, P. & Di Chiara, G. (1991). (D-Ala²) Deltorphin II: D₁-dependent stereotypies and stimulation of dopamine release in the nucleus accumbens. *The journal of neuroscience*, 11 (6), 1565-1576.
- Lu, L., Shepard, J.D., Hall, F.S. & Shaham, Y. (2003). Effect of environmental stressors on opiate and psychostimulant reinforcement, reinstatement and discrimination in rats: a review. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 27, 457-491.
- Lu, L., Xu, N, Ge, X., Yue, W., Su W., Pei, G. & Ma, L. (2002). Reactivation of morphine conditioned place preference by drug priming: role of environmental cues and sensitization. *Psychopharmacology*, 159, 125-132.

- Mansour, A., Fox, C.A., Burke, S., Akil, H. & Watson, S.J. (1995). Immunohistochemical localization of the cloned μ opioid receptor in the rat CNS. *Journal of chemical neuroanatomy*, 8(4), 283-305.
- Martin, W.R., Eades, C.G., Thompson, J.A., Huppler, R.E. & Gilbert, P.E. (1976). The effects of morphine- and nalorphine- like drugs in the nondependent and morphine-dependent chronic spinal dog. *The journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 197 (3), 517-32.
- Matsuzaki, S., Ikeda, H., Akiyama, G., Sato, M., Moribe, S., Suzuki, T., et al. (2004). Role of μ - and δ - opioid receptors in the nucleus accumbens in turning behavior of rats. *Neuropharmacology*, 46, 1089-1096.
- Matthes, H.W., Maldonado, R., Simonin, F., Valverde, O., Slowe, S., Kitchen, I., et al., (1996). Loss of morphine-induced analgesia, reward effect and withdrawal symptoms in mice lacking the mu-opioid-receptor gene. *Nature*, 383(6606), 819-823.
- Matthews, R.T. & German, D.C. (1984). Electrophysiological evidence for excitation of rat ventral tegmental area dopamine neurons by morphine. *Neuroscience*, 11(3), 617-625.
- Mazella, J., Botto, J.M., Guillemare, E., Coppola, T., Sarret, P. & Vincent, J.P. (1996). Structure, functional expression, and cerebral localization of the levocabastine-sensitive neurotensin/neuromedin N receptor from mouse brain. *The journal of neuroscience*, 16(18), 5613-5620.
- Mazella, J., Zsürger, N., Navarro, V., Chabry, J., Kaghad, M., Caput, D., et al. (1998). The 100-kDa neurotensin receptor is gp95/sortilin, a non-G-protein-coupled receptor. *The journal of biological chemistry*, 273(41), 26273-26276.
- McBride W.J., Murphy, J.M. & Ikemoto, S. (1999). Localization of brain reinforcement mechanisms: intracranial self-administration and intracranial place-conditioning studies. *Behavioural brain research*, 101, 129-152.
- Mendrek, A., Blaha, C.D. & Phillips, A.G. (1998). Pre-exposure of rats to amphetamine sensitizes self-administration of this drug under a progressive ratio schedule. *Psychopharmacology*, 135, 416-422.
- Mereu, G., Costa, E., Armstrong, D.M. & Vicini, S. (1991). Glutamate receptor subtypes mediate excitatory synaptic currents of dopamine neurons in midbrain slices. *The journal of neuroscience*, 11(5), 1359-1366.
- Nalivaiko, E., Michaud, J.-C., Soubrié, P. & Le Fur, G. (1998). Electrophysiological evidence for putative subtypes of neurotensin receptors in guinea-pig mesencephalic dopaminergic neurons. *Neuroscience*, 86(3), 799-811.

- Narita, M., Funada, M. & Suzuki, T. (2001). Regulations of opioid dependence by opioid receptor types. *Pharmacology & therapeutics*, 89, 1-15.
- Narita, M., Mizuo, K., Mizoguchi, H., Sakata, M., Narita, M., Tseng, L.F. & Suzuki, T. (2003). Molecular evidence for the functional role of dopamine receptor in the morphine-induced rewarding effect and hyperlocomotion. *The journal of neuroscience*, 23(3), 1006-1012.
- Negus, S.S., Henriksen, S.J., Mattox, A., Pasternak, G.W., Portoghese, P.S., Takemori, A.E., et al. (1993). Effect of antagonists selective for mu, delta and kappa opioid receptors on the reinforcing effects of heroin in rats. *The journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 265(3), 1245-1252.
- Nestby, P., Vanderschuren, L.J.M.J., De Vries, T.J., Hogenboom, F., Wardeh, G., Mulder, A.H. & Schoffelmeer, A.N.M. (1997). Ethanol, like psychostimulants and morphine, causes long-lasting hyperreactivity of dopamine and acetylcholine neurons of rat nucleus accumbens: possible role in behavioral sensitization. *Psychopharmacology*, 133, 69-76.
- O'Brien, C.P. (1997). A range of research-based pharmacotherapies for addiction. *Science*, 278, 66-70.
- Olds, M.E. (1982). Reinforcing effects of morphine in the nucleus accumbens. *Brain research*, 237, 429-440.
- Pan, Z.Z. (1998). μ -Opposing actions of the κ -opioid receptor. *Trends in pharmacological sciences*, 19, 94-98.
- Panayi, F., Dorso, E., Lambás-Señas, L., Renaud, B., Scarna, H. & Béroud, A. (2002). Chronic blockade of neurotensin receptors Strongly reduces sensitized, but not acute, behavioral response to D-amphetamine. *Neuropsychopharmacology*, 26, 64-74.
- Pert, C.B. & Snyder, S.H. (1973). Properties of opiate-receptor binding in rat brain. *Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America*, 70, 2243-2247.
- Phillips, A.G. & LePiane, F.G. (1982). Reward produced by microinjection of (D-Ala²), Met⁵-enkephalinamide into the ventral tegmental area. *Behavioral brain research*, 5, 225-229.
- Piazza P.V. & Le Moal, M. (1998). The role of stress in drug self-administration. *Trends in pharmacological sciences*, 19, 67-74.
- Pickel, V.M., Chan, J., Delle Donne, K.T., Boudin, H., Pélaprat, D. & Rostène, W. (2001). High-affinity neurotensin receptors in the rat nucleus accumbens: subcellular targeting and relation to endogenous ligand. *The journal of comparative neurology*, 435, 142-155.

Pulvirenti, L., Swerdlow, N.R. & Koob, G.F. (1991). Nucleus accumbens NMDA antagonist decreases locomotor activity by cocaine, heroin or accumbens dopamine, but not caffeine. *Pharmacology, biochemistry and behavior*, 40(4), 841-845.

Radcliff, R.A. & Erwin, V.G. (1996). Alterations in locomotor activity after microinjections of GBR-12909, selective dopamine antagonists or neurotensin into the medial prefrontal cortex. *The journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 277(3), 1467-1476.

Ranaldi, R., Munn, E., Neklesa, T. & Wise, R.A. (2000). Morphine and amphetamine sensitization in rats demonstrated under moderate- and high-dose NMDA receptor blockade with MK-801 (dizocilpine). *Psychopharmacology*, 151, 192-201.

Rompré, P.-P. (1997). Repeated activation of neurotensin receptors sensitizes to the stimulant effect of amphetamine. *European journal of pharmacology*, 328, 131-134.

Rompré, P.-P. & Gratton, A. (1993). Mesencephalic microinjections of neurotensin-(1-13) and its C-terminal fragment, neurotensin-(8-13), potentiate brain stimulation reward. *Brain research*, 616(1-2), 154-62.

Rompré, P.-P. & Perron, S. (2000). Evidence for a role of endogenous neurotensin in the initiation of amphetamine sensitization. *Neuropharmacology*, 39, 1880-1892.

Rostène, W., Azzi, M., Boudin, H., Lepee, I., Souaze, F., Mendez-Ubach, M., et al. (1997). Use of nonpeptide antagonists to explore the physiological roles of neurotensin. *Annals of New York academy of sciences*, 814, 125-141.

Saal, D., Dong, Y., Bonci, A. & Malenka, R.C. (2003). Drugs of abuse and stress trigger a common synaptic adaptation in dopamine neurons. *Neuron*, 37, 577-582.

Santucci, V., Gueudet, C., Steinberg, R., Le Fur, G. & Soubrié, P. (1997). Involvement of cortical neurotensin in the regulation of rat meso-cortico-limbic dopamine neurons: evidence from changes in the number of spontaneously active A10 cells after neurotensin receptor blockade. *Synapse*, 26, 370-380.

Sarret, P., Krzywkowski P., Segal, L., Nielsen, M.S., Petersen, C.M., Mazella, J., et al. (2003a). Distribution of NTS3 receptor/sortilin mRNA and protein in the rat central nervous system. *The journal of comparative neurology*, 461, 483-505.

Sarret, P., Perron, A., Stroh, T. & Beaudet, A. (2003b). Immunohistochemical distribution of NTS2 neurotensin receptors in the rat central nervous system. *The journal of comparative neurology*, 461, 520-538.

Sato, M. (1992). A lasting vulnerability to psychosis in patients with previous methamphetamine psychosis. *Annals of New York academy sciences*, 654, 160-70.

Scheggi, S., Mangiavacchi, S., Masi, F., Gambarana, C., Tagliamonte, A. & De Montis, M.G. (2002). Dizocilpine infusion has a different effect in the development of morphine and cocaine sensitization : behavioral and neurochemical aspects. *Neuroscience*, 109(2), 267-274.

Schiltein, S., Ågmo, A., Huston, J.P. & Schwarting, R.K.W. (1998). Intraaccumbens injections of substance P, morphine and amphetamine: effects on conditioned place preference and behavioral activity. *Brain research*, 790, 185-194.

Selley, D.E., Cao, C.-C., Sexton, T., Schewegel, J.A., Martin, T.J. & Childers, S.R. (2001). μ Opioid receptor-mediated G-protein activation by heroin metabolites: evidence for greater efficacy of 6-monoacetylmorphine compared with morphine. *Biochemical pharmacology*, 62, 447-455.

Sesack, S.R., Carr D.B., Omelchenko N. & Pinto, A. (2003). Anatomical substrates for glutamate-dopamine interactions, evidence for specificity of connections and extrasynaptic actions. *Annals of the New York academy of sciences*, 1003, 36-52.

Sesack, S.R. & Pickel, V.M. (1992). Prefrontal cortical efferents in the rat synapse on unlabeled neuronal targets of catecholamines terminals in the nucleus accumbens septi and on dopamine neurons in the ventral tegmental area. *Journal of comparative neurology*, 320(2), 145-160.

Shaham, Y., Erb, S. & Stewart, J. (2000). Stress-induced relapse to heroin and cocaine seeking in rats: a review. *Brain research reviews*, 33, 13-33.

Shaham, Y., Rajabi, H. & Stewart, J. (1996). Relapse to heroin-seeking in rats under opioid maintenance: the effect of stress, heroin priming, and withdrawal. *The journal of neuroscience*, 16(5), 1957-1963.

Shalev, U., Grimm, J.W. & Shaham, Y. (2002). Neurobiology of relapse to heroin and cocaine seeking: a review. *Pharmacological reviews*, 54, 1-42.

Shalev, U., Highfield, D., Yap J. & Shaham, Y. (2000). Stress and relapse to drug seeking in rats: studies on the generality of the effect. *Psychopharmacology*, 150, 337-346.

Snyder, S.H. & Pasternak, G.W. (2003). Historical review: opioid receptors. *Trends in pharmacological sciences*, 24(4), 198-205.

Sora, I., Elmer, G., Funada, M., Pieper, J., Li, X.-F., Hall, S. & Uhl, G.R. (2001). μ Opiate receptor gene dose effects on different morphine actions:evidence for differential *in vivo* μ receptor reserve. *Neuropsychopharmacology*, 25(1), 41-54.

Sotty, F., Brun, P., Leonetti, M., Steinberg, R., Soubrié, P., Renaud, B. & Suaud-Chagny, M.F. (2000). Comparative effects of neurotensin, neurotensin (8-13) and [D-

- Tyr¹¹]neurotensin applied into the ventral tegmental area on extracellular dopamine in the rat prefrontal cortex and nucleus accumbens. *Neuroscience*, 98(3), 485-492.
- Sotty, F., Soulière, F., Brun, P., Chouvet, G., Steinberg, R., Soubrié, P., Renaud, B. & Suaud-Chagny, M.F. (1998). Differential effects of neurotensin on dopamine release in the caudal and rostral nucleus accumbens: a combined *in vivo* electrochemical and electrophysiological study. *Neuroscience*, 85(4), 1173-1182.
- Spaganel, R., Herz, A. & Shippenberg, T.S. (1991). Modulation of the mesolimbic dopaminergic system by β -endorphin-(1-27) as assessed by microdialysis. *European journal of pharmacology*, 200, 319-324.
- Spaganel, R., Herz, A. & Shippenberg, T.S. (1992). Opposing tonically active endogenous opioid systems modulate the mesolimbic dopaminergic pathway. *Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America*, 89, 2046-2050.
- Steffensen, S.C., Svingos, A.L., Pickel, V.M. & Henriksen, S.J. (1998). Electrophysiological characterization of GABAergic neurons in the ventral tegmental area. *The journal of neuroscience*, 18(19), 8003-8015.
- Steinberg, R., Brun, P., Fournier, M., Souilhac J., Rodier, D., Mons, G., et al. (1994). SR 48692, a non-peptide neurotensin receptor antagonist differentially affects neurotensin-induced behavior and changes in dopaminergic transmission. *Neuroscience*, 59(4), 921-929.
- Steketee, J.D. (2003). Neurotransmitter systems of the medial prefrontal cortex: potential role in sensitization to psychostimulants. *Brain research reviews*, 41, 203-228.
- Stewart, J. & Badiani A. (1993). Tolerance and sensitization to the behavioral effects of drugs. *Behavioral pharmacology*, 4, 289-312.
- Stiller, C.-O., Gustafsson, H., Fried, K. & Brodin, E. (1997). Opioid-induced release of neurotensin in the periaqueductal gray matter of freely moving rats. *Brain research*, 774, 149-158.
- Stinus, L., Koob, G.F., Ling, N., Bloom, F.E. & Le Moal, M. (1980). Locomotor activation induced by infusion of endorphins into the ventral tegmental area : evidence for opiate-dopamine interactions. *Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America*, 77(4), 2323-2327.
- Stowe, Z.N. & Nemeroff, C.B. (1991). The electrophysiological actions of neurotensin in the central nervous system. *Life sciences*, 49(14), 987-1002.
- Strakowski, S.M. & Sax, K.W. (1998). Progressive behavioral response to repeated d-amphetamine challenge: further evidence for sensitization in humans. *Biological psychiatry*, 44, 1171-1177.

- Strakowski, S.M., Sax, K.W., Setters, M.J., Stanton, S.P. & Keck, P.E., Jr. (1996). Enhanced response to repeated d-amphetamine challenge: evidence for behavioral sensitization in humans. *Biological psychiatry*, *40*, 872-880.
- Suaud-Chagny, M.F., Chergui, K., Chouvet, G & Gonon, F. (1992). Relationship between dopamine release in the rat nucleus accumbens and the discharge activity of dopaminergic neurons during local application of amino acids in the ventral tegmental area. *Neuroscience*, *49*(1), 63-72.
- Suto, N., Tanabe, L.M., Austin, J.D., Creekmore, E., Pham, C.T. & Vezina, P. (2004). Previous exposure to psychostimulants enhances the reinstatement of cocaine seeking by nucleus accumbens AMPA. *Neuropsychopharmacology*, *29*, 2149-2159.
- Svingos, A.L., Garzon, M., Colago, E.E. & Pickel, V.M. (2001). Mu-opioid receptors in the ventral tegmental area are targeted to presynaptically and directly modulate mesocortical projection neurons. *Synapse*, *41*(3), 221-9.
- Swanson, C.J. (1982). The projections of the ventral tegmental area and adjacent regions: a combined fluorescent retrograde tracer and immunofluorescence study in the rat. *Brain research bulletin*, *9*, 321-353.
- Swanson, C.J. & Kalivas, P.W. (2000). Regulation of locomotor activity by metabotropic glutamate receptors in the nucleus accumbens and ventral tegmental area. *The journal of pharmacology and experimental therapeutics*, *292*, 406-414.
- Swerdlow, N.R., Amalric, M. & Koob, G.F. (1987). Nucleus accumbens opiate-dopamine interactions and locomotor activation in rat: evidence for a pre-synaptic locus. *Pharmacology, biochemistry & behavior*, *26*, 765-769.
- Tanaka, K., Masu, M. & Nakanishi, S. (1990). Structure and functional expression of the cloned rat neurotensin receptor. *Neuron*, *4*(6), 847-54.
- Tanganelli, S., O'Connor, W.T., Ferraro, L., Bianchi, C., Beani, L., Ungerstedt, U. & Fuxe, K. (1994). Facilitation of GABA release by neurotensin is associated with a reduction of dopamine release in rat nucleus accumbens. *Neuroscience*, *60*(3), 649-657.
- Todtenkopf, M.S., Marcus, J.F., Portoghese, P.S. & Carlezon, W.A. (2004). Effects of κ -opioid receptor ligands on intracranial self-stimulation in rats. *Psychopharmacology*, *172*, 463-470.
- Trujillo, K.A. (2000). Are NMDA receptors involved in opiate-induced neural and behavioral plasticity? *Psychopharmacology*, *151*, 121-141.

- Tsuji, M., Takeda, H., Matsumiya, T., Nagase, H., Narita, M. & Suzuki, T. (2001). The novel κ -opioid agonist TRK-820 suppresses the rewarding and locomotor-enhancing effects of morphine in mice. *Life sciences*, 68, 1717-1725.
- Ujike, H. & Sato, M. (2004). Clinical features of sensitization to methamphetamine observed in patients with methamphetamine dependence and psychosis. *Annals of the New York academy of sciences*, 1025, 279-287.
- Van der Kooy, D., Mucha, R.F., O'Shaughnessy, M. & Buceniaks, P. (1982). Reinforcing effects of brain microinjections of morphine revealed by conditioned place preference. *Brain research*, 243(1), 107-117.
- Vanderschuren, L.J.M.J., De Vries, T.J., Wardeh, G., Hogenboom, F.A.C.M. & Schoffelmeer, A.N.M. (2001). A single exposure to morphine induces long-lasting behavioral and neurochemical sensitization in rats. *European journal of neuroscience*, 14, 1533-1538.
- Vanderschuren, L.J.M.J., Schoffelmeer, A.N.M. & De Vries, T.J. (1997a). Does dizocilpine (MK-801) inhibit the development of morphine-induced behavioral sensitization in rats? *Life sciences*, 61(26), 427-433.
- Vanderschuren, L.J.M.J., Schoffelmeer, A.N.M., Mulder, A.H. & De Vries, T.J. (1998). Dizocilpine (MK801): use or abuse? *Trends in pharmacological sciences*, 19, 79-81.
- Vanderschuren, L.J.M.J., Schoffelmeer, A.N.M., Mulder, A.H. & De Vries, T.J. (1999). Lack of cross-sensitization of the locomotor effects of morphine in amphetamine-treated rats. *Neuropsychopharmacology*, 21(4), 550-559.
- Vanderschuren, L.J.M.J., Tjon, G.H.K., Nestby, P., Mulder, A.H., Schoffelmeer, A.N.M. & De Vries, T.J. (1997b). Morphine-induced long-term sensitization to the locomotor effects of morphine and amphetamine depends on the temporal pattern of the pretreatment regimen. *Psychopharmacology*, 131, 115-122.
- Vanderschuren, L.J.M.J. & Kalivas, P.W. (2000). Alterations in dopaminergic and glutamatergic transmission in the induction and expression of behavioral sensitization: a critical review of preclinical studies. *Psychopharmacology*, 151, 99-120.
- Van Ree, J.M., Gerrits, M.A. F. M. & Vanderschuren, L.J. M. J. (1999). Opioids, Reward and Addiction: An Encounter of Biology, Psychology, and Medicine. *Pharmacological reviews*, 51(2), 341-396.
- Vekovischeva, O.Y., Zamanillo, D., Echenko, O., Seppälä, T., Uusi-Oukari, M., Honkanen, et al. (2001). Morphine-induced dependence and sensitization are altered in mice deficient in AMPA-type glutamate receptor-A subunits. *The journal of neuroscience*, 21(2), 4451-4459.

- Vezina, P. (2004). Sensitization of midbrain dopamine neuron reactivity and the self-administration of psychomotor stimulant drugs. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 27, 827-839.
- Vezina, P., Blanc, G., Glowinski, J. & Tassin, J.P. (1992). Nicotine and morphine differentially activate brain dopamine in prefrontocortical and subcortical terminal fields: effects of acute and repeated injections. *The journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 261(2), 484-90.
- Vezina, P., Giovino, A.A., Wise, R.A. & Stewart, J. (1989). Environnement-specific cross-sensitization between the locomotor activating effects of morphine and amphetamine. *Pharmacology, biochemistry and behavior*, 32, 581-584.
- Vezina, P., Kalivas, P.W. & Stewart, J. (1987). Sensitization occurs to the locomotor effects of morphine and the specific μ opioid receptor agonist, DAGO, administered repeatedly to the ventral tegmental area but not to the nucleus accumbens. *Brain research*, 417, 51-58.
- Vezina, P., Lorrain, D.S., Arnold, G.M., Austin, J.D. & Suto, N. (2002). Sensitization of midbrain dopamine neuron reactivity promotes the pursuit of amphetamine. *The journal of neuroscience*, 22(11), 4654-4662.
- Vezina, P. & Stewart, J. (1989). The effect of dopamine receptor blockade on the development of sensitization to the locomotor activating effects of amphetamine and morphine. *Brain research*, 499, 108-120.
- Vezina, P. & Stewart, J. (1990). Amphetamine administered to the ventral tegmental area but not to the nucleus accumbens sensitizes rats to systemic morphine: lack of conditioned effects. *Brain research*, 516(1), 99-106.
- Vincent, J.P., Mazella, J. & Kitabgi, P. (1999). Neurotensin and neurotensin receptors. *Trends in pharmacological science*, 20, 302-309.
- Weatherspoon, J.K., Frank, A.R. & Werling, L.L. (1996). Neurotensin, N-acetyl-aspartyl-glutamate and β -endorphin modulate [3 H] dopamine release from guinea pig nucleus accumbens, prefrontal cortex and caudate-putamen. *Neuropeptides*, 30 (5), 497-505.
- Weiss, F., Ciccocioppo, R., Parsons, L.H., Katner, S., Liu, X., Zorrilla, E.P., et al. (2001). Compulsive drug-seeking behavior and relapse. Neuroadaptation, stress, and conditioning factors. *Annals of the New York academy of sciences*, 937, 1-26.
- Werkman, T.R., Kruse, C.G., Nievelstein, H., Long, S.K. & Wadman, W.J. (2000). Neurotensin attenuates the quinpirole-induced inhibition of the firing rate of dopamine neurons in the rat substantia nigra pars compacta and the ventral tegmental area. *Neuroscience*, 95(2), 417-423.

- White, F.J. & Wang, R.Y. (1983). Comparison of the effects of chronic haloperidol treatment on A9 and A10 dopamine neurons in the rat. *Life sciences*, 32(9), 983-993.
- Williams, J.T., Christie, M.J. & Manzoni, O. (2001). Cellular and synaptic adaptations mediating opioid dependence. *Physiological reviews*, 81(1), 299-343.
- Wirtshafter, D. & Sheppard, A.C. (2001). Localization of GABA_B receptors in midbrain monoamine containing neurons in the rat. *Brain research bulletin*, 56(1), 1-5.
- Wise, R.A. (1989). Opiate reward: sites and substrates. *Neuroscience & biobehavioral reviews*, 13, 129-133.
- Wise, R.A. & Rompré, P.-P. (1989). Brain dopamine and reward. *Annual review of psychology*, 40, 191-225.
- Wolf, M.E. (1998). The role of excitatory amino acids in behavioral sensitization to psychomotor stimulants. *Progress in neurobiology*, 54, 679-720.
- Woo, S.-H., Kim, H.-S., Yun, J.-S., Lee, M.-K., Oh, K.-W., Seong, Y.-H., et al. (2001). Inhibition of baclofen on morphine-induced hyperactivity, reverse tolerance and postsynaptic dopamine receptor supersensitivity. *Pharmacological research*, 43(4), 335-340.
- World Drug Report (2004). http://www.unodc.org/unodc/en/world_drug_report.html.
- World Health Organization (2003). Management of substance dependence. http://www.who.int/substance_abuse.
- Xi, Z.-X. & Stein, E.A. (1999). Baclofen inhibits heroin self-administration behavior and mesolimbic dopamine release. *The journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 290, 1369-1374.
- Yamada, M., Yamada, M., Lombet, A., Forgez, P. & Rostène, W. (1998). Distinct functional characteristics of levocabastine sensitive rat neurotensin NT₂ receptor expressed in chinese hamster ovary cells. *Pharmacology letters*, 62(23), 375-380.
- Yui, K., Ishiguro, T., Goto, K., Ikemoto, S. & Kamata, Y. (1999). Spontaneous recurrence of methamphetamine psychosis: increased sensitivity to stress associated with noradrenergic hyperactivity and dopaminergic change. *European archives of psychiatry and clinical neuroscience*, 249, 103-111.
- Zapata, A., Chefer, V.I., Ator, R., Shippenberg, T.S. & Rocha, B.A. (2003). Behavioral sensitization and enhanced dopamine response in the nucleus accumbens after intravenous cocaine self-administration in mice. *European journal of neuroscience*, 17, 590-596.